

长沙市2016—2023年A(H1N1)pdm09流感病毒 血凝素基因进化特征

刘晓蕾,叶文,袁洁,裴瑞青,黄政,徐明忠*

长沙市疾病预防控制中心,湖南长沙 410001

摘要: **目的** 分析2016—2023年度长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒的血凝素(hemagglutinin, HA)基因特征,了解HA基因遗传进化趋势和氨基酸突变情况,为新形势下流感疫情的防控、流感疫苗筛选提供科学依据。**方法** 无特定病原(specific pathogen free, SPF)鸡胚分离法获得2016—2023年长沙市的A(H1N1)pdm09流感病毒毒株,使用Illumina公司的MiSeq对其进行二代测序测定。借助DNASTar中MegAlign软件分析HA基因的同源性,构建进化树使用Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11(MEGA11)软件中的Neighbor Joining(NJ)法进行。**结果** 2016—2023年长沙市的A(H1N1)pdm09流感病毒HA基因同源性为94.8%~99.9%,HA基因同源性逐年降低。2016—2023年度长沙市A(H1N1)pdm09分离株与WHO疫苗推荐株同源性为96.8%~99.0%,流感分离株与疫苗推荐株匹配性相对较好。长沙市的A(H1N1)pdm09流感病毒HA基因进化树显示其在6B分支中进化出多个不同分支,目前已进化到6B.1A.5a.2a分支。HA 4个抗原决定簇氨基酸位点不断发生变异,目前4个抗原决定簇中的15个抗原位点氨基酸发生突变,分离株在2023年新出现的A186T抗原变异位点近期值得关注。受体结合位点在130环相对保守,220环零星发生氨基酸变异,190环氨基酸变异位点是否日趋稳定还需加强监测。以A/California/07/2009(CY121680)为参考株,近年来长沙市大部分A(H1N1)pdm09分离株增加了162 NQTY糖基化位点,减少了276 NTTC糖基化位点,目前这2个位点的糖基化变异日趋稳定。**结论** 长沙市A(H1N1)pdm09病毒HA基因不断进化变异,提示病毒有逃逸免疫反应可能,我们应持续加强流感监测。

关键词: A(H1N1)pdm09;HA基因;进化特征

中图分类号:R373.1+3 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2023)11-1151-06

DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2023.11.05

The genetic evolution characteristics of HA gene of influenza A(H1N1)pdm09 virus in Changsha City from 2016–2023

LIU Xiaolei, YE Wen, YUAN Jie, PEI Ruiqing, HUANG Zheng, XU Mingzhong

Changsha Center For Disease Control and Prevention, Changsha, Hu'nan 410001, China

Corresponding author: XU Mingzhong, E-mail: cscdchz@126.com

Abstract: Objective To analysis the genetic evolution characteristics of hemagglutinin (HA) gene of influenza A(H1N1) pdm virus in Changsha City from 2016–2023, to understand the trend of the HA genetic evolution and the mutations of the amino acid. It provides a scientific basis for the prevention and control of influenza epidemics, as well as the screening of vaccines under the new situation. **Methods** The A(H1N1)pdm09 virus strains from Changsha City from 2016 to 2023 were isolated using SPF chicken embryos, and then the HA genes were sequenced by MiSeq of Illumina Inc. The homology of HA gene was analyzed by MegAlign of the DNASTAR, and the phylogenetic tree was constructed using the Neighbor Joining (NJ) method in the Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 (MEGA11). **Results** The homology of the HA gene of A(H1N1)pdm virus in Changsha from 2016 to 2023 was between 94.8%–99.9%, with the HA gene homology decreasing annually. The homology between the isolated strains of A(H1N1)pdm09 in Changsha City from 2016 to 2023 and the WHO recommended vaccine strain ranged from 96.8% to 99.0%, indicating a relatively good match between the flu isolates and the recommended vaccine strain. The phylogenetic tree of the HA gene of the A(H1N1)pdm09 influenza virus in Changsha City showed that the HA gene evolved into several different branches within the 6B branch, and it had currently evolved to 6B.1A.5a.2a branch. Constant mutations had occurred at the amino acid sites of the four antigenic determinant clusters of HA protein. Currently, amino acid mutations had occurred at 15 antigenic sites within the four antigenic determinant clusters, and

基金项目:湖南省自然科学基金项目(No.2023JJ60070)

作者简介:刘晓蕾(1987—),女,硕士,主管技师,研究方向:分子病毒学。

*通信作者:徐明忠, E-mail: cscdchz@126.com

the newly emerged A186T antigen mutant site in the isolates from 2023 was worth recent notice. The receptor-binding sites are relatively conserved in loop 130, minor amino acid mutations occurred in loop 220, whether the amino acid mutation site in loop 190 is becoming more stable needs to be further monitored. Taking A/California/07/2009 (CY121680) as the reference strain, most of the A(H1N1) pdm09 isolates in Changsha was increased 162 NQTY glycosylation site and was decreased 276 NTTC glycosylation site, and the glycosylation mutations at these two sites have become more stable recently. **Conclusions** The HA genes of influenza A(H1N1)pdm virus in Changsha are constantly evolving and mutating, suggesting influenza surveillance should be strengthened continuously.

Keywords: A(H1N1)pdm09; HA gene; evolution characteristics

A(H1N1)pdm09 流感病毒是由人源、禽源和猪源病毒重配而成的新型流感病毒^[1], 2009年首先在墨西哥暴发, 随后引起全球大流行。2009年以后季节性H1N1被A(H1N1)pdm09 流感病毒取代, A(H1N1)pdm09成为季节性流感的主要亚型之一。

流感病毒血凝素(hemagglutinin, HA)基因变异是流感流行暴发的主要原因。HA基因编码的血凝素是流感病毒重要的表面抗原和保护性抗原, 能够产生中和抗体和凝集红细胞, 在病毒的受体识别以及复制过程中起重要作用^[2]。HA的抗原决定簇位点、受体结合位点和糖基化位点的氨基酸变异是病毒抗原性和致病性发生变异的分子基础之一^[3]。

本文对长沙市2016—2023年A(H1N1)pdm09 流感病毒的HA基因特征进行分析, 了解HA基因的遗传进化特征和氨基酸突变情况, 为长沙市科学防控A(H1N1)pdm09 流感提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病毒分离及鉴定 按照《全国流感监测方案(2010年版)》要求, 用9~11日龄SPF鸡胚对哨点医院采集的流感样病例的咽拭子标本直接分离培养, 获得2016年A(H1N1)pdm09 流感毒株。按照《全国流感监测方案(2017年版)》要求, 首先用Real-time RT-PCR方法对流感样病例标本进行流感病毒亚型或系鉴定, 检测阳性的标本, 再用鸡胚进行病毒分离获得2017—2023年A(H1N1)pdm09 流感毒株。

1.2 病毒RNA的提取及Real-time RT-PCR检测 采用西安天隆核酸提取试剂盒(磁珠法)提取病毒RNA; 用江苏硕世流感病毒Real-time RT-PCR检测试剂盒对流感样病例标本核酸进行检测。

1.3 流感序列测定 测序PCR扩增使用One-step qRT-PCR试剂盒(invitrogen), 流感病毒全基因组扩增反应体系及条件来自《全国流感监测技术指南(2017年版)》。Illumina公司的MiSeq进行二代测序。

1.4 同源性比较和序列分析 全球共享禽流感数据

倡议组织(Global Initiative on Sharing All influenza Data, GISAID)网站上下载不同省份A(H1N1)pdm09参考毒株以及2015—2022年WHO推荐北半球A(H1N1)pdm09 流感疫苗株的HA基因序列。借助DNAStar中MegAlign软件分析HA基因的同源性, 构建进化树使用Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11(MEGA11)软件中的Neighbor Joining(NJ)法进行。A(H1N1)pdm09 流感病毒进化分支从<https://clades.nextstrain.org/>网站上获得。<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetNGlyc-1.0/>网站上预测HA蛋白潜在的N-糖基化位点。

2 结果

2.1 病毒的分离与鉴定 2016—2023年长沙市鸡胚培养分离出18株A(H1N1)pdm09 流感毒株。其中2016年6株, 2017年1株, 2018年3株, 2019年5株, 2023年3株。2020年起新型冠状病毒肆虐全球, 我国及时启动了全面有效的防疫政策, 新冠病毒传播得以有效控制, 同时也控制了其他呼吸道疾病流行传播, 2020—2022年长沙市流感网络实验室未检测到A(H1N1)pdm09 流感病毒。

2.2 HA基因特征分析

2.2.1 HA基因同源性分析 2016—2023年长沙市A(H1N1)pdm09分离株同源性为94.8%~99.9%, 不同年份之间同源性逐年降低。2016年长沙市A(H1N1)pdm09分离株与疫苗株A/California/7/2009(H1N1)pdm09同源性为96.8%~98.1%, 2017—2019年长沙市A(H1N1)pdm09分离株与疫苗株A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09同源性为97.8%~99.0%, 2023年长沙市A(H1N1)pdm09分离株与疫苗株A/victoria/2570/2019(H1N1)pdm09同源性为98.7%。见图1。

2.2.2 HA系统进化分析 进化树分析显示(图2), 2016—2023年长沙市A(H1N1)pdm09 流感病毒分离株属于6B分支, 2016—2017年分离株分布于6B.1和6B.2进化分支, 2018年分离株全部在6B.1A进化分

		相似度 Percent identity																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		
变异度 Divergence	1	■	99.5	98.5	99.5	97.4	99.3	97.4	99.2	98.5	98.5	98.7	98.2	98.1	98.2	98.1	98.2	99.4	98.5	96.7	96.7	96.7	97.8	1	20160364-HAseq
	2	0.5	■	98.5	99.7	97.4	99.5	97.4	99.4	98.6	98.6	98.8	98.3	98.1	98.3	98.3	98.3	99.4	98.6	96.8	96.7	96.8	97.8	2	20160371-HAseq
	3	1.5	1.5	■	98.4	98.0	98.3	98.1	98.1	97.4	97.6	97.6	97.1	97.0	97.2	97.1	97.2	98.7	97.4	95.9	95.9	95.9	96.6	3	20160415-HAseq
	4	0.5	0.3	1.6	■	97.4	99.5	97.4	99.3	98.5	98.6	98.8	98.3	98.0	98.3	98.2	98.2	99.4	98.5	96.7	96.7	96.7	97.7	4	20160527-HAseq
	5	2.7	2.7	2.1	2.7	■	97.1	96.8	97.0	96.3	96.7	96.6	96.1	95.8	96.0	96.0	96.0	97.5	96.3	94.8	94.8	94.8	95.5	5	20160605-HAseq
	6	0.7	0.5	1.8	0.5	2.9	■	97.2	99.2	98.4	98.4	98.6	98.1	97.9	98.1	98.0	98.1	99.2	98.4	96.7	96.6	96.7	97.7	6	20160829-HAseq
	7	2.5	2.5	1.8	2.5	3.1	2.7	■	97.0	96.5	96.6	96.6	96.1	95.8	96.1	96.0	96.1	97.6	96.4	94.9	94.9	94.9	95.7	7	A-California-7-2009 (H1N1)pdm09-HA.seq
	8	0.9	0.6	1.9	0.7	3.1	0.9	2.9	■	98.2	98.3	98.4	98.0	97.7	97.9	98.0	98.0	99.0	98.2	96.5	96.4	96.5	97.4	8	20171226-HAseq
	9	1.5	1.4	2.6	1.5	3.8	1.7	3.5	1.8	■	99.0	99.2	99.2	98.5	98.6	98.1	98.8	98.3	99.1	97.1	95.0	96.4	98.3	9	20180359-HAseq
	10	1.5	1.4	2.5	1.4	3.4	1.6	3.3	1.8	1.0	■	99.7	98.8	98.5	98.8	98.7	98.8	98.4	99.0	97.2	97.2	97.2	98.2	10	20180404-HA.seq
	11	1.3	1.2	2.4	1.3	3.5	1.4	3.3	1.6	0.8	0.3	■	98.0	98.7	98.9	98.0	98.9	98.5	99.2	96.6	96.4	96.5	98.4	11	20180502-HAseq
	12	1.8	1.7	2.9	1.8	4.1	1.9	3.8	2.0	0.8	1.3	2.0	■	98.0	98.6	98.0	98.8	98.0	98.8	97.0	94.8	96.5	98.0	12	20190130-HA.seq
	13	1.9	1.9	3.1	2.0	4.4	2.2	4.2	2.4	1.5	1.5	1.4	2.0	■	98.4	98.0	98.5	97.8	98.5	97.0	96.9	96.9	98.1	13	20190202-HAseq
	14	1.8	1.7	2.9	1.8	4.1	1.9	3.8	2.1	1.5	1.3	1.1	1.9	1.7	■	97.6	99.5	98.0	98.9	97.9	97.1	97.1	99.0	14	20190224-HAseq
	15	1.9	1.8	3.0	1.8	4.1	2.0	4.0	2.1	2.0	1.3	2.0	1.2	2.1	2.4	■	98.6	97.9	98.8	96.9	96.4	96.3	97.9	15	20190226-HA.seq
	16	1.8	1.7	2.9	1.8	4.2	1.9	3.8	2.0	1.2	1.3	1.1	1.4	1.5	0.5	1.4	■	98.0	98.8	98.0	98.0	98.0	99.0	16	20190226-HA.seq
	17	0.6	0.5	1.3	0.6	2.5	0.8	2.2	0.9	1.7	1.6	1.4	2.0	2.2	2.0	2.0	2.0	■	98.4	96.5	96.5	96.5	97.5	17	20190226-HA.seq
	18	1.5	1.4	2.6	1.4	3.8	1.6	3.5	1.8	0.9	0.9	0.7	1.1	1.4	1.0	1.2	1.1	1.6	■	97.3	97.2	97.3	98.3	18	20190226-HA.seq
	19	3.4	3.3	4.2	3.4	5.4	3.4	5.1	3.7	2.9	2.8	3.5	3.1	3.1	2.2	3.1	2.0	3.5	2.7	■	99.9	99.9	98.7	19	20230327-HAseq
	20	3.4	3.4	4.3	3.4	5.5	3.5	5.2	3.7	5.2	2.9	3.7	5.4	3.2	3.0	3.7	2.1	3.6	2.8	0.1	■	99.4	98.7	20	20230328-HAseq
	21	3.4	3.3	4.2	3.4	5.4	3.4	5.1	3.7	3.7	2.8	3.6	3.6	3.2	3.0	3.8	2.0	3.5	2.7	0.1	0.6	■	98.7	21	20230330-HAseq
	22	2.2	2.2	3.4	2.3	4.6	2.3	4.2	2.6	1.7	1.7	1.6	2.0	1.9	0.9	2.0	0.9	2.5	1.6	1.2	1.3	1.2	■	22	A_victoria_2570_2019(H1N1)pdm09-HAseq

图1 2016—2023年长沙市A(H1N1)pdm09流感分离株和疫苗株同源性比较

Fig. 1 Comparison of the homology between A(H1N1)pdm09 influenza strains in Changsha City and the vaccine strains, 2016-2023

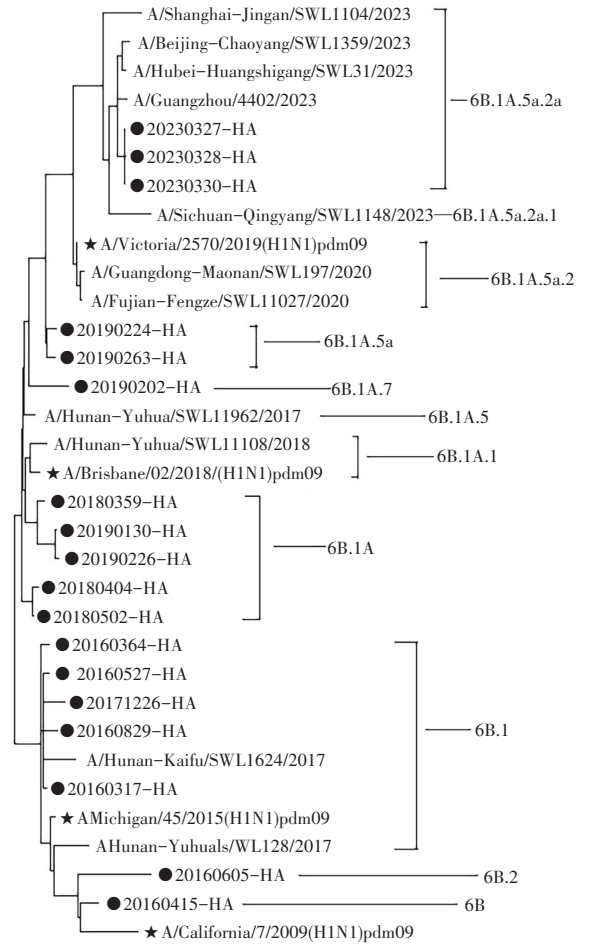
支,2019年分离株分布于6B.1A、6B.1A.7和6B.1A.5a进化分支,2023年分离株分布在6B.1A.5a.2a进化分支。

2.2.3 HA基因氨基酸变异位点分析

2.2.3.1 抗原位点分析 以 A/California/07/2009 (CY121680)为参考株得到长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒HA抗原位点变异情况,本研究中Ca、Sa、Sb和Cb抗原决定簇15个抗原位点氨基酸发生变异。2016年以后分离株HA蛋白的S203T、S185T、S162N/I、K163Q位点出现稳定变异,2018年以后S164T和S74R位点出现稳定变异。2023年长沙市分离株在Sb抗原决定簇中发现了A186T、Q189E位点变异,Sa抗原决定簇中发现N156K和L161I变异位点。见表1。

2.2.3.2 受体结合位点分析 以 A/California/07/2009 (CY121680)为参考株,2016年以来长沙市分离株在130环相对保守,220环零星发生氨基酸变异,2023年毒株中190环氨基酸发生变异。见表1。

2.2.3.3 糖基化位点分析 以 A/California/07/2009 (CY121680)为参考株,其有7个糖基化位点,分别是11 NSTD、23 NVTV、87 NGTC、276 NTTC、287 NTSL、481 NGTY、540 NGSL。本研究中大部分毒株增加了162 NQTY,只有2个毒株20160415和20160605不含此糖基化位点。此外,大部分毒株减少了1个糖基化位点即276 NTTC糖基化位点,只有20160371、20180404、20180502和20190226毒株还保留了此糖基化位点。见表1。



注:★疫苗推荐株;●长沙市分离株。Note:★Vaccine recommend strain;●Changsha City isolate.

图2 2016—2023年长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒HA基因进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of HA gene of influenza A(H1N1)pdm09 viruses in Changsha, 2016-2023

表 1 长沙市 A(H1N1)pdm09 HA 基因的氨基酸变异情况
Table 1 The amino acid variation of the A(H1N1)pdm09 HA gene in Changsha

毒株名称 Strain name	抗原决定簇 Antigenic determinant							受体结合位点 Receptor binding site					糖基化位点 Glycosylation site				
	Ca		Sb		Sa		Cb	220 环 Ring220			190 环 Ring190		162	276			
	138	203	235	185-190	156	161-164	74	222	223	224	233	235	189	NQTY	NTTC		
A/California/7/2009 (H1N1)	H	S	E	SADQQS	N	LSKS	S	D	Q	E	L	E	D	V	Q	未糖基化	糖基化
20160364		S203T		S185T		S162N K163Q				Q223R						增加	缺失
20160371		S203T		S185T		S162N K163Q										增加	
20160415		S203T		S185N		K163Q											缺失
20160527		S203T		S185T		S162N K163Q										增加	缺失
20160605		S203T		S185T		K163Q				Q223R D238G							缺失
20160829		S203T	E235D	S185T		S162N K163Q				E235D						增加	缺失
A/Michigan/45/ 2015(H1N1)		S203T		S185T		S162N K163Q										增加	缺失
20171226		S203T		S185T		S162N K163Q										增加	缺失
20180359		S203T		S185T		S162N S164T	S74R									增加	缺失
20180404	H138Y	S203T		S185T		S162N	S74R									增加	
						K163Q S164T											
20180502	H138Y	S203T		S185T		S162N	S74R									增加	
						K163Q S164T											
20190130		S203T		S185T		S162N	S74R			D222G						增加	缺失
						K163Q S164T											
20190202		S203T		S185T		S162N	S74R			D222N						增加	缺失
						K163Q S164T											
20190224		S203T		S185T S190R		S162N	S74R									增加	缺失
						K163Q S164T											
20190226		S203T		S185T D187A		S162N	S74R			L233I						增加	
						K163Q S164T											
20190263		S203T		S185T		S162N	S74R			D222N						增加	缺失
						K163Q S164T											
A/Brisbane/02/ 2018(H1N1)		S203T		S185T		S162N	S74R									增加	缺失
						K163Q S164T											
A/Victoria/2570/ 2019(H1N1)		S203T		S185I	N156K	L161I S162N	S74R			Q223R V250A						增加	缺失
						K163Q S164T											
20230327		S203T		S185I A186T	N156K	L161I S162N	S74R			E224A V250A	Q189E					增加	缺失
				Q189E		K163Q S164T											
20230328		S203T		S185I A186T	N156K	L161I S162N	S74R			E224A V250A	Q189E					增加	缺失
				Q189E		K163Q S164T											
20230330		S203T		S185I A186T	N156K	L161I S162N	S74R			E224A V250A	Q189E					增加	缺失
				Q189E		K163Q S164T											

3 讨论

以往监测数据显示,A(H1N1)pdm09 流感亚型是引起长沙市流感流行和暴发的主要型别之一,长沙市冬春季流行高峰主要以 A(H1N1)pdm09 和 B 型流感病毒交替流行或共同流行为主^[4]。

本研究显示,2016—2023 年长沙市 A(H1N1)pdm09 流感病毒 HA 基因的同源性逐年降低,提示 A(H1N1)pdm09 流感病毒 HA 基因仍在不断地进化变异。2016—2023 年病毒分离株与 WHO 推荐疫苗株同源性较高,尤其是 2017 年以后分离株与疫苗株同

源性在97.8%以上,分离株与疫苗株匹配性较好,接种流感疫苗仍是预防流感的有效途径。

中国大陆的A(H1N1)pdm09流感病毒6B.1A分支的毒株最早出现在2017年9月^[5],2018年长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒出现了6B.1A进化分支,2019年进化为6B.1A.5a分支,2023年进一步进化为6B.1A.5A.2a分支。近年来长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒HA基因的遗传进化分支呈现多样性。从进化树中也可以看出长沙市2016年分离株在进化分支上更接近于2017—2018年度推荐的A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09疫苗株,2016分离株与当年推荐疫苗株匹配性相对较低,这点在其他相关研究中也提到过^[6]。

有研究显示流感病毒HA1蛋白分子的氨基酸替换发生4个以上并分布在至少2个抗原决定簇上才具有流行病学意义^[7]。A(H1N1)pdm09流感病毒有4个抗原决定簇,分别是Ca(137-142,166-170,203,221,235)、Cb(70-75)、Sa(124,153-157,159-164)和Sb(184-195),涉及44个抗原位点^[8]。以A/California/07/2009(CY121680)为参考株,本研究中Ca、Sa、Sb和Cb抗原决定簇抗原位点氨基酸不断发生变异,目前涉及4个抗原决定簇中的15个抗原位点发生氨基酸突变。S203T、S185T、S162N-I、K163Q、S164T和S74R已是共同变异位点,这与国内其他研究结果一致^[9]。以2022—2023年度推荐疫苗株A/Victoria/2570/2019(H1N1)为参考,2023年长沙市分离株新出现了A186T和Q189E 2个变异位点,其中Q189E位点变异已有相关文献报道^[10-12],A186T变异位点近期尤其值得关注。流感病毒HA抗原决定簇中的44个氨基酸位点变异会影响病毒的抗原漂移,这种变异慢慢积累,也会引起病毒逃逸自然或者疫苗引起的免疫反应,从而导致流感的流行^[13]。本研究中长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒HA的抗原位点氨基酸不断发生变异,提示病毒有逃逸免疫反应可能,我们有必要对流感分离株进行连续监测,也为下一年度流感疫苗筛选提供依据。

流感病毒HA受体结合位点负责介导病毒进入,是影响流感病毒毒力的主要因素之一^[14]。A(H1N1)pdm09流感病毒受体结合位点分别由220环(218-225位)、130环(132-135位)和190环(187-195位)组成^[15]。2016年以来长沙市A(H1N1)pdm09流感分离株在130环相对保守,220环零星发生氨基酸变异,2019年以来190环Q189E位点变异是否是稳定变异还需要进一步加强监测。国际上普遍认为位于220环的222位点发生突变(如D222E、D222N或D222G),会导

致HA蛋白更易与SAa2,3Gal受体结合,SAa2,3Gal受体主要分布于人下呼吸道,从而导致人下呼吸道感染,更易成为临床上的重症病例^[16-17]。2019年长沙市A(H1N1)pdm09流感分离株出现D222N和D222G位点变异,但由于本研究流感分离株是鸡胚分离株,该突变有可能是鸡胚适应性突变^[18]。

HA糖基化位点的变化如糖基化位点的增减、糖基化位置的变化以及受体结合位点糖链的变化都会影响病毒的毒力和病毒与宿主受体的结合能力^[19]。近年来长沙市A(H1N1)pdm09病毒分离株主要在2个糖基化位点162和276上发生了变异。以A/California/07/2009(CY121680)为参考株,大部分分离株增加了162 NQTY糖基化位点,减少了276 NTTC糖基化位点,这2个位点的糖基化变异日趋稳定。

近来研究发现,甲型流感病毒可增强新冠病毒的感染性,主要是通过促进新冠病毒病毒进入细胞并增加病毒载量^[20-21],因此,我们要警惕A(H1N1)pdm09流感病毒合并新型冠状病毒感染带来的风险,目前形势下加强流感病毒的监测具有更为重要的意义。本研究通过对2016—2023年长沙市A(H1N1)pdm09流感病毒分离株的HA基因特征进行分析,发现其同源性逐年降低,HA基因进化分支呈现多样性,HA蛋白的氨基酸位点不断发生变异,提示A(H1N1)pdm09流感病毒仍在不断进化,应继续加强流感监测,为新形势下流感疫情的防控、流感疫苗筛选提供依据。

伦理审查与知情同意 本研究不涉及伦理批准和知情同意

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] JAIN S, FINELLI L, SHAW M W, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2605-2615.
- [2] SKEHEL J J, WILEY D C. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin[J]. *Annu Rev Biochem*, 2000, 69: 531-569.
- [3] KOEL B F, MÖGLING R, CHUTINIMITKUL S, et al. Identification of amino acid substitutions supporting antigenic change of influenza a(H1N1)pdm09 viruses[J]. *J Virol*, 2015, 89(7): 3763-3775.
- [4] 刘晓蕾,袁洁,叶文,等. 2013—2018年长沙市流感病原学监测结果分析[J]. *医学动物防制*, 2021, 37(12): 1199-1202.
LIU X L, YUAN J, YE W, et al. Analysis on influenza surveillance in Changsha from 2013 to 2018[J]. *J Med Pest Control*, 2021, 37(12): 1199-1202.(in Chinese)
- [5] 成艳辉,刘佳,谭敏菊,等. 2017—2018监测年度中国大陆A(H1N1)pdm09亚型流感病毒抗原性和基因特性分析[J]. *病毒学报*, 2019, 35(3): 431-439.
CHENG Y H, LIU J, TAN M J, et al. Analysis of antigenic and genetic characteristics of influenza a(H1N1)pdm09 viruses isolated

- from mainland China during the 2017–2018 influenza season[J]. *Chin J Virol*, 2019, 35(3): 431–439.(in Chinese)
- [6] 赵剑虹, 韩桃利, 张玉松, 等. 2009—2019年北京市朝阳区甲型H1N1流感病毒HA基因特征分析[J]. *中国病毒病杂志*, 2022, 12(2): 126–132.
- ZHAO J H, HAN T L, ZHANG Y S, et al. The genetic characteristics of HA gene of influenza A (H1N1) virus in Chaoyang district of Beijing in 2009–2019[J]. *Chin J Viral Dis*, 2022, 12(2): 126–132.(in Chinese)
- [7] WILSON I A, COX N J. Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin[J]. *Annu Rev Immunol*, 1990, 8: 737–787.
- [8] IGARASHI M, ITO K, YOSHIDA R, et al. Predicting the antigenic structure of the pandemic (H1N1) 2009 influenza virus hemagglutinin[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8553.
- [9] 崔栋, 肖娜, 杨晓华, 等. 2016—2019年深圳市盐田区新甲型H1N1流感病毒HA基因特征研究[J]. *应用预防医学*, 2022, 28(4): 307–311.
- CUI D, XIAO N, YANG X H, et al. Analysis of HA gene characteristics of new influenza A (H1N1) virus in Yantian, Shenzhen from 2016 to 2019[J]. *Appl Prev Med*, 2022, 28(4): 307–311.(in Chinese)
- [10] 刘东洋, 杨月清, 樊红霞, 等. 2017—2019年呼和浩特市甲型A(H1N1)pdm09流感病毒基因特征分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2023, 39(4): 376–382.
- LIU D Y, YANG Y Q, FAN H X, et al. Genetic characterization of the influenza A (H1N1) pdm09 virus in Hohhot, 2017–2019[J]. *Chin J Zoonoses*, 2023, 39(4): 376–382.(in Chinese)
- [11] 崔薇, 初秋, 李晨光, 等. 长春市2016—2020监测年度甲型H1N1流感病毒血凝素(HA)基因特征分析[J]. *中国实验诊断学*, 2023, 27(6): 690–695.
- CUI W, CHU Q, LI C G, et al. Analysis of Genetic Characteristics of hemagglutinin(HA) gene of influenza a(H1N1) pdm09 virus in Changchun during 2016–2020[J]. *Chin J Lab Diagn*, 2023, 27(6): 690–695.(in Chinese)
- [12] 孙初阳, 崔磊, 潘家兴, 等. 2019—2020年海南省A(H1N1)pdm09流感病毒基因特性分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2021, 37(6): 532–537.
- SUN C Y, CUI L, PAN J X, et al. Analysis of genetic characteristics of a(H1N1)pdm09 influenza virus isolated in Hainan Province in 2019–2020[J]. *Chin J Zoonoses*, 2021, 37(6): 532–537.(in Chinese)
- [13] World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2017–2018 Northern Hemisphere influenza season[J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 2017, 92(11): 117–28.
- [14] 祁贤, 汤奋扬, 李亮, 等. 新甲型H1N1(2009)流感病毒的早期分子特征[J]. *微生物学报*, 2010, 50(1): 81–90.
- QI X, TANG F Y, LI L, et al. Molecular Characterization of the early phase of the Novel influenza A H1N1(2009) Viruses[J]. *Acta Microbiol Sin*, 2010, 50(1): 81–90.(in Chinese)
- [15] GAMBLIN S J, HAIRE L F, RUSSELL R J, et al. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin[J]. *Science*, 2004, 303(5665): 1838–1842.
- [16] KILANDER A, RYKKVIN R, DUDMAN S G, et al. Observed association between the HA1 mutation D222G in the 2009 pandemic influenza a(H1N1) virus and severe clinical outcome, Norway 2009–2010[J]. *Eurosurveillance*, 2010, 15(9): 19498.
- [17] BELSER J A, JAYARAMAN A, RAMAN R, et al. Effect of D222G mutation in the hemagglutinin protein on receptor binding, pathogenesis and transmissibility of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25091.
- [18] CHEN Z Y, WANG W J, ZHOU H, et al. Generation of live attenuated novel influenza virus A/California/7/09 (H1N1) vaccines with high yield in embryonated chicken eggs[J]. *J Virol*, 2010, 84(1): 44–51.
- [19] 丁小满, 俞慕华. 流感病毒蛋白糖基化及其功能研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(12): 1267–1271.
- DING X M, YU M H. Research progress of glycosylation for influenza virus protein[J]. *Chin J Zoonoses*, 2014, 30(12): 1267–1271.(in Chinese)
- [20] BAI L, ZHAO Y L, DONG J Z, et al. Coinfection with influenza A virus enhances SARS-CoV-2 infectivity[J]. *Cell Res*, 2021, 31(4): 395–403.
- [21] LI H, ZHAO X, ZHAO Y R, et al. H1N1 exposure during the convalescent stage of SARS-CoV-2 infection results in enhanced lung pathologic damage in hACE2 transgenic mice[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021, 10(1): 1156–1168.

收稿日期:2023-06-19 编辑:王佳燕