

·学科进展与展望·

国家自然科学基金重大项目 “禽流感关键科学问题的基础研究” 的紧急启动与思考

陈越 陈领 张作文 徐淑芳 杜生明

(国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085)

[摘要] 针对我国禽流感频繁发生和人感染禽流感新发病例不断出现的严峻现状,国家自然科学基金委员会依据国家需求,组织多学科相关领域的专家进行了论证,经过立项、公开申请、项目初评、答辩和自然科学基金委委务会审议,紧急启动了“禽流感关键科学问题的基础研究”这一重大项目,旨在推动禽流感的基础研究,提供人类和动物流感发生与流行的分子生物学和免疫学信息,为禽流感药物和疫苗的研发提供理论依据,并为禽流感科学防控措施的制定提供技术支撑。本文介绍了“禽流感关键科学问题的基础研究”这一问题的提出、立项、科学问题凝练、内容和目标的确立及思考等。

[关键词] 禽流感,分子流行病学,感染与免疫,致病机理,蛋白结构与功能,重大项目

当前,禽流感的频繁发生不仅严重影响了家禽养殖业的健康发展,而且严重威胁到人类健康和安
全,已给暴发禽流感的国家带来巨大经济冲击。虽然已引起各国各级政府的高度重视并实施紧急预案,但不断暴发的现实充分说明防控形势依然非常严峻。联合国粮农组织(FAO)与世界动物卫生组织(OIE)多次强调“只要禽流感还在家禽中存在与暴发,人类就有被传染的危险。人类不断遭受禽流感病毒的传染,这有可能导致病毒变异,并发展成为对人类构成威胁的流行性病毒”。因此,科学防控禽流感,加强禽流感的基础研究必须提到日程上来。

1 问题的提出

动物源性疫病疫情频频向人类袭来^[1-3]。人们刚刚结束对 SARS 的战役,禽流感又随之而来,到目前为止,已在泰国、越南、印度尼西亚和中国等 7 个国家造成 90 余人死亡。世界卫生组织(WHO)警告“世界正处在传染性流感大暴发的边缘,没有哪一个国家可以免受其害,也没有哪一个国家可以对此高枕无忧”,同时还预测“禽流感病毒将会变种并成为

可以人传人的病毒,各国必须立即防范禽流感在全球的大暴发”。作为世界上养禽大国,中国惟一的选择就是加大对禽流感病毒的分子流行病学特征、变异规律、病毒跨种传播和致病机理等方面的研究力度。因此国家自然科学基金委员会紧急启动了禽流感基础研究重大项目。

2 立项的依据

禽流感在一些国家和地区的发生和蔓延,不仅严重影响了经济、社会的发展,而且对人民的健康与生命安全构成严重危害^[4,5]。当前在我国、东南亚国家和其他国家流行的禽流感主要是由 H5N1 亚型禽流感病毒引起的高致病性禽流感。2004 年在我国发生的 50 起高致病性禽流感,造成近 1000 万只的家禽被扑杀。2005 年,我国在 11 个省地发生了 36 余起高致病性禽流感,已扑杀家禽 2300 多万只。另外,由于人感染事件的不断发生,造成了人们谈禽色变,中国家禽养殖业面临崩溃的危险局面。

2003 年流行至今的东南亚高致病性禽流感,已在越南、泰国、柬埔寨、印度尼西亚、土耳其、伊拉克

本文于 2006 年 4 月 3 日收到。

和中国造成了175人发病,其中95人死亡。自我国2005年11月16日首次通报人禽流感病例^[6]至今已有15人被确诊,其中10人死亡。早在1997年香港就有18人感染禽流感病毒,其中6人死亡^[7,8]。虽然已在7个国家发生了人感染禽流感的事件,所幸的是尚没有发现人传人的病例。但目前研究已经证明,历史上发生的人流感大流行都与禽流感病毒有一定的联系。1957至1968年的亚洲流感^[9,10]和发生于1918年造成2000多万人死亡的流感大流行,其病毒可能起源于禽流感病毒^[11,12]。虽然人与人之间的传播尚未被发现,但是有些个案还是应引起足够重视,例如,在泰国一个母亲与患儿密切接触而受感染,在越南有几例被怀疑与局限性的人传染人有关^[13]。

因此自然科学基金委紧急启动重大项目“禽流感关键科学问题的基础研究”,该项目的启动具有重要的意义,主要体现在如下3个方面:

(1) 紧扣国计民生之需求:自然科学基金委重大项目立项的基本点之一就是要充分体现国家的需求。当前禽流感不仅对我国的养殖业造成了重创,而且已造成人感染和死亡。我国被认为是引起世界流感大流行新变种毒株的主要发源地,如果禽流感发生了人与人之间的传播,对世界无疑将是一场灾难。本重大项目以禽流感为研究对象,认识禽流感病毒的分子变异和进化规律,揭示禽流感病毒的致病、感染和免疫机理,对保证国家的经济稳定和公众健康具有深远的战略意义。

(2) 促进学科交叉与融合:通过运用基因组研究与生物信息学、分子流行病学、病毒感染的分子生物学以及蛋白质组学的交叉,从群体、个体、细胞、分子不同层次和不同角度,研究其关键问题,使我们有能力阐明禽流感病毒的变异和进化规律、感染和致病机理。基因组和蛋白质组学技术的综合将构成病毒研究的技术平台,数据和资料共享平台的建立是本项目实施的一个重要方面。

(3) 推动人才队伍建设:“禽流感关键科学问题的基础研究”所研究的内容和解决的科学问题都是本领域的热点和前沿。参与本项目实施的人员都是一批活跃在科研第一线的年轻科学家,相信通过相关领域科学家的共同努力,不仅会在禽流感基础研究领域取得突破性进展,而且会培养和带动一批科研人员的成长。本重大项目围绕国家的重大需求和国家中长期发展规划,聚集优秀人才,优化资源配置,主攻关键科学问题,构筑创新平台,由此而构建

的平台对今后快速解决新发疫病的防控和系统研究有重要借鉴作用。

3 科学问题的凝练

面对我国禽流感频繁发生和人感染禽流感新发病例不断出现的严峻现状,自然科学基金委根据国家需求,积极组织相关科学家座谈和调研,经过充分讨论,提出了“禽流感关键科学问题的基础研究”重大项目,拟解决如下4个关键科学问题:

(1) 禽流感病毒分子流行病学和进化规律:对我国禽流感病毒进行流感病毒监测,通过病毒全基因组测序与分析,阐明禽流感病毒的生物学遗传信息、分子流行病学特点和遗传变异规律,为预防人类流感的发生与流行提供重要的分子生物学和免疫学信息。

(2) 禽流感病毒主要蛋白的结构与功能:流感病毒蛋白的三维结构解析是认识病毒及其蛋白功能的重要途径,所以通过三维结构的研究,不仅有助于了解蛋白对病毒功能的影响,并能够以此为基础设计小分子药物阻断流感病毒的复制,为分子药物的研发奠定理论基础。

(3) 禽流感病毒感染与免疫的机制:寻找禽流感病毒对人感染的细胞受体,以确定病毒与细胞的亲和机制,通过对禽流感病毒感染的天然和获得性免疫应答的研究,阐明禽流感病毒感染与免疫机制。

(4) 人感染禽流感病毒的发病机制:阐明禽流感病毒感染人的途径,解析病毒不同结构蛋白在病毒感染和致病过程中的作用,探讨禽流感病毒对人高致病性的关键分子基础,尤其是机体免疫与炎症反应的分子基础,为降低病死率,提高治愈率提供理论依据。

4 研究内容和目标的确立

作为重大项目,要充分利用有限的基金开展科学问题研究,就必须紧扣跨学科的特点,采用整合研究手段,把握重点研究内容,抓住病毒宿主、传播途径、侵入方式、发病机制和免疫机理这一主线,为此,确立6个方面的研究内容:

(1) 禽流感病毒的分子流行病学调查:对我国家禽、野禽尤其是迁徙鸟和哺乳动物等进行流感病毒监测,并通过病毒全基因组测序与分析,阐明禽流感病毒的生物学遗传信息,以单克隆抗体和多克隆血清,分析病毒的重要抗原表位遗传变异状况,从而掌握禽流感病毒的分子流行病学特征。

(2) 禽流感病毒的分子变异和进化规律:病毒特性取决于其基因组的结构与特点,禽流感病毒通过病原的基因变异、基因重组、基因重排等方式突破原有物种间的屏障,在其他物种间引发新型传染病的流行。利用基因组研究与生物信息学理论和技术,研究基因变异发生机制和变异所导致的功能改变和影响,研究病毒在感染和传染过程中的进化规律,预测病毒对人类的威胁和危害。

(3) 禽流感病毒的感染机制:流感病毒与细胞受体结合是感染的首要步骤,寻找禽流感病毒对人感染的细胞受体,以确定病毒与细胞的亲和机制及其对宿主细胞的影响;同时研究与病毒蛋白相互作用的宿主细胞内蛋白,确定宿主细胞内蛋白对病毒的影响,为研制小分子药物提供理论依据。

(4) 禽流感病毒的免疫机制:通过研究禽流感病毒感染小鼠引起的天然免疫应答,阐明巨噬细胞在炎症过程中的反应,解析禽流感病毒是如何抑制I型干扰素的产生,探讨禽流感病毒感染特异性免疫应答的调节机制,筛选禽流感CTL细胞表多肽,阐明CTL对机体抗病毒感染的保护作用。

(5) 禽流感病毒主要蛋白的结构与功能:利用X-射线晶体学方法,结合生物信息学的研究手段,解析禽流感病毒重要蛋白质以及与宿主相互作用蛋白复合物的三维结构,从结构生物学角度揭示禽流感病毒装配、成熟、感染等生物学特性,阐明流感病毒结构的改变对感染和致病的影响。在此基础上,进行禽流感病毒重要蛋白结构的药物设计和药物筛选,为抗禽流感病毒药物的研发奠定基础。

(6) 禽流感病毒感染人致病机理:研究禽流感病毒感染人引起致病过程中的信号传导和炎症反应等关键途径的相关细胞因子,探讨与重要分子标志相互作用和引起功能性反应的禽流感病毒关键性结构蛋白及其功能位点,同时利用反向遗传技术对禽流感强弱毒株主要结构蛋白进行交叉重组获得重排病毒,通过细胞和动物实验解析高致病性禽流感病毒感染人和对人的致病机理和相应的分子基础。

通过以上研究内容,可望达到如下4个目标:

(1) 通过对我国畜禽进行流感病毒监测,阐明禽流感病毒的生物学遗传信息;揭示禽流感病毒的分子流行病学特点和病毒的遗传变异规律,为防控措施制定提供理论依据。

(2) 通过对禽流感病毒三维结构的研究,解析蛋白结构对病毒功能的影响,为流感病毒分子药物的研发提供理论基础。

(3) 解析禽流感病毒与细胞的亲和机制及病毒感染对免疫系统的影响;研究禽流感病毒感染的分子细胞基础,查明炎性因子或细胞因子等在感染和免疫中的分子基础,从而阐明禽流感病毒感染与免疫的机制。

(4) 阐明禽流感病毒感染人的途径和使人致病的机理;研究禽流感病毒对不同动物的感染性,初步建立禽流感病毒感染动物模型。

5 重大项目受理、评议和资助情况

生命科学部紧急启动的重大项目“禽流感关键科学问题的基础研究”在网上公布申请指南后,受理项目1项(联合申请,含4项课题)和单项课题申请28项。在32项课题申请中,其中14份来自综合院校,占43.75%;7份来自农业院校,占21.88%;5份来自军事医学科研院所,占15.63%;3份来自中科院系统,占9.37%;3份来自医科院校,占9.37%。从申请课题主持人来看,具有从事人流感及禽流感研究背景、并取得良好进展的有15位,占46.88%;另外17位申请人(占53.12%),尽管在动物和人的病毒方面有良好背景,取得创新的研究成果,但在禽流感和流感方面没有任何研究基础,没有发表论文和从事高致病性微生物方面必备的相关实验条件。其中以关键科学问题“禽流感分子流行病学和病毒进化、变异规律研究”申请的课题共9项;以关键科学问题“禽流感病毒主要蛋白的结构与功能”申请的课题共4项;以关键科学问题“禽流感病毒感染与免疫的机制研究”申请的课题共7项;以关键科学问题“人感染禽流感病毒的发病机制”申请的课题共10项;另外有2项课题申请与重大项目指南拟资助的关键科学问题不相符。有4项课题因主持人或参加人已经有在研重点项目,根据国家自然科学基金项目管理规定给予初筛,共筛6项。

自然科学基金委生命科学部于2005年12月23日邀请12位国内相关领域专家,以会议评审方式,主要根据自然科学基金委发布的项目指南和对申请人的具体要求,从项目的科学意义、主要研究内容、研究目标及科学问题凝练等方面开展评议,每位专家对26份申请课题仔细阅读,充分发表意见并认真讨论,通过记名投票,从26份课题中遴选出8位申请人参加答辩。8位答辩人基本上是长期从事禽流感方面基础研究,已经取得良好进展,并发表高水平论文,有些还获得国家科技进步奖励。

通过对8位申请人的汇报和答辩进行评议,最

终形成了以“禽流感病毒分子流行病学和病毒进化变异规律”、“禽流感病毒主要蛋白的结构与功能研究”、“禽流感病毒感染的免疫应答及免疫保护机制研究”和“人感染禽流感病毒发病机制研究”4个课题构成的“禽流感关键科学问题的基础研究”重大项目,其中“禽流感病毒 NS1 蛋白的结构与其抑制宿主免疫反应功能的相关性”研究内容结合在“禽流感病毒主要蛋白的结构与功能研究”课题中。该重大项目通过对不同地区养殖场不同品种禽畜进行流感病毒检测,分析病毒基因的遗传变异和进化状况,阐明病毒的分子流行病学特征,解析病毒的进化规律;通过对禽流感病毒感染的炎症反应信号转导、I 型干扰素反应的调节作用以及共刺激信号途径在禽流感病毒感染免疫反应中的调节作用的研究,阐明禽流感病毒感染的免疫应答机理及其调控机制;通过对禽流感 CTL 细胞表位多肽的筛选、特异性 T 细胞免疫保护作用及疫苗的交叉保护作用,阐明抗体及 T 细胞免疫的分子基础;通过对禽流感单链抗体的筛选,研发具有预防和治疗功能的单链纳米抗体;通过对流感病毒蛋白精细三维结构的研究,了解蛋白对病毒的功能影响,并以此为基础设计小分子药物来阻断流感病毒的复制,为流感病毒分子药物的研发奠定理论基础;通过细胞和动物体内实验来研究禽流感病毒对人致病的关键因素等,尝试解析高致病性禽流感病毒感染人和对人高致病性的发病机理和相应的分子基础,最终为我国禽流感的防控提供理论和科学支撑。

6 立项过程的思考

(1) 2003 年“SARS”的暴发几乎将整个国家的社会及经济生活置于瘫痪状态,其影响至今尤在。10 年前,艾滋病对很多中国人来讲还是一个很陌生的名词,而今天艾滋病的感染率正在以每年 30% 的速度增长。目前禽流感暴发所造成的经济损失和社会恐惧都进一步警告我们:一是我国基础研究中头痛医头,脚痛医脚的被动局面,务必引起各级政府和领导的高度重视;二是发生这种情况,一定要深究症结何在。在众多因素中,我们的管理层面是否应负有主要的责任。如果一个管理者,没有掌握最新的知识,没有熟悉国际学科发展最新研究动态,没有了解国家需求,制定出的优先领域缺乏前瞻性,资助格局不具战略性,就会出现“遇到什么问题——思考什么问题——资助什么问题”的被动局面。要改变科学研究的被动局面,只有科学研究走在疫病的前面,

我们才会处于主动地位,因此加强和扩大人畜共患病的研究,建立预警预报机制,是十分必要的。

(2) 高度重视动物源新发传染病的危害,建立科学研究的长效机制。自 20 世纪 70 年代以来全世界新发传染病已达 40 余种,绝大部分被证实为动物源性疫病。新的疫病一旦出现,我们可以控制,但是要消灭,将是非常困难的。例如野生水禽是禽流感病毒的自然宿主,现实决定我们不可能消灭禽流感,尤其是候鸟高致病性禽流感的发生更使禽流感的防治具有长期性和艰巨性^[14,15]。因此我国疾病防治工作面临着严峻的挑战,必须加大对动物源性人类新发传染病的长效研究力度,开展研究新发传染病的发生机制和在此基础上对新发传染病的预警和预报是当前亟待解决的问题。

(3) 加强各部门协作,充分发挥各科研院所的力量,实现数据资料共享。当前,禽流感已涉及多个部门,比如农业部、卫生部和林业局等,各部门的优势力量宜有机联合起来,打破部门间的分隔,实现数据资料共享,才能尽快出成果。例如人禽流感的发生,必须要查明疫源地才能有效采取控制措施,需要农业部门和卫生部门的专家学者携起手来。而家禽禽流感的发生又必须和野鸟禽流感的调查结合起来,这又需要农业部门和林业部门联合起来。成立多部门、多领域参与的合作组织,打破部门间的隔阂,携手攻关。

(4) 加强生物安全意识。由于高致病性禽流感是关系到国计民生的重大动物疫病,具有较强的传染性,而且对人健康具有极大的威胁,保证研究的安全性具有重要的意义。在重大项目申请指南中,非常明确要求申请人必须有从事禽流感研究的背景和取得良好的研究进展,拥有能开展相关研究的禽流感毒株和血清,在实验室方面明确要求有符合国家规定的 BSL-3 实验室。

(5) 加强区域性禽流感参考实验室建设。目前我国部分科研院所建立了 BSL-3 实验室,但由于种种原因,通过验收的实验室很少。在高致病性禽流感的防控中,关键是要早发现、快速确诊,采取严格的封锁、扑杀和消毒等一系列强制措施,及时将其控制和扑灭,防制疫情扩散,使损失降低到最低程度。最近两年,国家禽流感参考实验室在我国禽流感的防控中发挥了主导作用,但由于我国幅员辽阔,常常出现禽流感的频繁发生,从发现病例到确诊的空档时间内,疫情极有可能从疫点散播开。因此,在早确诊方面,单纯一个实验室很难保证全国各地疫情诊

断工作的需要,要将建设“区域性禽流感参考实验室”提到日程上来。

致谢 本文在完成过程中,得到了中国农业大学刘金华教授、郑世军教授和中国科学院微生物研究所高福研究员的大力帮助,在此表示衷心感谢!

参 考 文 献

- [1] Guan Y, Zheng BJ, He YQ et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, 302(5643): 276—278.
- [2] Tran TH, Nguyen TL, Nguyen TD et al. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med*, 2004, 350(12): 1179—1188.
- [3] Lvov DK, Butenko AM, Gromashevsky VL et al. West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: Examples of emerging-reemerging situations. *Arch Virol Suppl*, 2004, 18: 85—96.
- [4] Webster RG, Guan Y, Poon L et al. The spread of the H5N1 bird flu epidemic in Asia in 2004. *Arch Virol Suppl*, 2005, 19: 117—129.
- [5] Webster RG, Guan Y, Peiris M et al. Characterization of H5N1 influenza viruses that continue to circulate in geese in southeastern China. *J Virol*, 2002, 76(1): 118—126.
- [6] Yu H, Shu Y, Hu S et al. The first confirmed human case of avian influenza A (H5N1) in Mainland China. *Lancet*, 2006, 367(9504): 84.
- [7] 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(16): 393—396.
- [8] Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R et al. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet*, 1998, 351: 472—477.
- [9] Castrucci MR, Donatelli I, Sidoli L et al. Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology*, 1993, 193(1): 503—506.
- [10] Kida H, Ito T, Yasuda J et al. Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J Gen Virol*, 1994, 75: 2183—2188.
- [11] Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, 2005, 310(5745): 77—80.
- [12] Gamblin SJ, Haire LF, Russell RJ et al. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. *Science*, 2004, 303(5665): 1838—1842.
- [13] Olsen SJ, Ungchusak K, Sovann L et al. Family clustering of avian influenza A (H5N1). *Emerg Infect Dis*, 2005, 11(11): 1799—1801.
- [14] Liu JH, Xiao HX, Lei FM et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*, 2005, 309(5738): 1206.
- [15] Kruse H, Kirkemo AM, Handeland K. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(12): 2067—2072.

EMERGENT LAUNCH AND CONSIDERATION ON THE NSFC MAJOR PROGRAM: ESSENTIAL BASIC SCIENTIFIC RESEARCH OF AVIAN INFLUENZA

Chen Yue Chen Ling Zhang Zuowen Xu Shufang Du Shengming

(Department of Life Sciences, NSFC, Beijing 100085)

Abstract In response to the serious situation of frequent outbreaks of avian influenza in birds and human in China, NSFC organized experts from relevant research fields to design the subjects of researches in avian influenza. Through the initial assessment, discussion and defense, NSFC initiated this urgent program named “*Essential basic scientific research of avian influenza*” to improve the basic researches in avian influenza. Furthermore, these studies will provide information concerning the occurrence and the pandemics of human and animal influenza, and establish a solid basic and theoretical foundation in the development of medicine and vaccine against avian influenza and supply the technological assistance to establish the scientific measures for the prevention and control of avian influenza. In this paper, we described the reason and consideration to launch the program “*Essential basic scientific research of avian influenza*”, which is vital to the social stability and economic development in our country. We also emphasized the significance of the cross discipline studies and cooperations.

Key words avian influenza, molecular epidemiology, infection and immunity, pathogenic mechanisms, protein structure and function