

具有双受体结合能力的H6N6禽流感病毒在人源性呼吸道细胞的复制以及基因特点

杨振宇,解 中,张增峰

(广西医科大学基础医学院微生物学教研室,南宁 530021)

摘要 目的:评估具有双受体结合能力的H6N6禽流感病毒在体外人源性呼吸道细胞和组织的复制效率,行基因测序并分析其基因特点,探究该类病毒突破物种限制感染人类的能力。方法:应用固相亲和技术测定鸡源性H6N6禽流感病毒结合唾液酸受体的倾向,筛选具有双受体结合能力的H6N6禽流感病毒并评估其在人源呼吸道细胞A549、BEAS-2B和人呼吸道组织的复制,病毒全基因组测序、序列比较和同源性分析病毒8个基因节段氨基酸位点的变化。结果:具有双受体结合特性的H6N6亚型禽流感病毒均可在人源性呼吸道细胞A549、BEAS-2B细胞中有效复制,离体人支气管和肺组织病毒分离培养阳性、流感病毒核蛋白抗原检测阳性。4株具有双受体结合特性的H6N6亚型禽流感病毒来源于欧亚谱系,具有低致病性禽流感病毒的典型特征,HA受体结合域发现H156K、S263K基因突变,提示该2个位点突变可能与H6N6病毒具有双受体结合能力有关。结论:具有双受体结合特性的鸡源性H6N6亚型禽流感病毒无需适应即可在人呼吸道有效复制,提示该类禽流感病毒具有突破物种限制感染人类的风险,对人类健康和公共卫生安全形成潜在威胁。

关键词 H6N6亚型;基因特点;人源性呼吸道;复制;甲型流感病毒

中图分类号:S851.31 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2025)02-0185-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.004

Replication and genetic characterization of H6N6 avian influenza virus with dual receptor binding properties in human respiratory tract cells

YANG Zhenyu, XIE Zhong, ZHANG Zengfeng. (Department of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract **Objective:** To assess the replication efficiency of H6N6 avian influenza virus (AIV) with dual receptor binding properties in human respiratory cells and tissues *in vitro*, to conduct gene sequencing and analyze its genetic characterization, and to explore the potential of the virus crossing inter-species to infect humans. **Methods:** The receptor binding preference of chicken-originated H6N6 AIV to sialic acid receptors was detected by solid-phase direct binding assay. H6N6 AIV with dual receptor binding properties was selected, and its replication in human respiratory cells A549, BEAS-2B and human respiratory tissues was assessed. Sequencing of viral genomes, sequence alignment, and homology analysis were conducted to identify amino acid variations of all eight gene segments. **Results:** The H6N6 subtype AIV with dual receptor binding properties could effectively replicate in human respiratory cells A549 and BEAS-2B. Virus isolation and culture from isolated human bronchial and lung tissues were positive, and influenza virus nucleoprotein (NP) in human bronchial and lung tissues was also positive. Four strains of H6N6 subtype AIV with dual receptor binding properties originated from the Eurasian lineage and possessed the characterization of low pathogenicity AIV. H156K and S263K mutations in the HA receptor binding domain were found, suggesting that these two site mutations may be related to the dual receptor binding properties of H6N6 virus. **Conclusion:** Chicken-originated H6N6 subtype AIVs with dual receptor-binding properties can replicate effectively in the human respiratory tract without prior adaptation, indicating a

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.32160032)

[通信作者] 张增峰, E-mail: zfzhangphd@163.com

[收稿日期] 2025-02-14

potential risk of cross-species transmission to humans. These findings highlight a potential threat to human health and public health security.

Keywords H6N6 subtype; genetic characterization; human respiratory tract; replication; influenza A virus

流感病毒能否成功感染宿主细胞取决于它们与细胞表面受体结合的能力。人类流感病毒主要与人型受体唾液酸(sialic acid, SA) α -2,6Gal结合,该受体在人类上呼吸道上皮细胞广泛分布,而禽流感病毒(avian influenza virus, AIV)主要与禽型受体SA α -2,3Gal结合,主要在水禽类肠道和人类下呼吸道分布^[1]。一般认为,AIV跨越物种障碍并在人类之间建立持续传播,病毒必须获得与人型 α -2,6-唾液酸受体结合的能力。AIV受体结合特异性进化的3个重要阶段:最初偏向结合禽型受体,随后获得部分结合人型受体能力,最后获得偏向结合人型受体^[2]。H6N6亚型AIV广泛流行于水禽和陆禽中,并且感染率逐年增高,其中一些病毒在陆禽鸡中流行的病毒部分已进化出具有结合人型受体SA α -2,6Gal的能力^[3]。同时,H6N6病毒频繁地为溢出感染人的AIV H5N6和H7N9提供基因片段,病毒感染人类概率增高,对人类健康具有潜在威胁^[4-6]。因此,评估具有双受体结合能力的H6N6亚型AIV能否在人呼吸道有效复制和感染,并筛选出其受体结合特性转变的基因特点,有助于理解病毒感染宿主的组织嗜性及跨种间屏障传播的分子机制,为有效监测H6N6病毒突破宿主限制感染人提供基础。

1 材料与方法

1.1 毒株与离体人呼吸道组织标本 H6N6 亚型 AIV 的筛选和扩增

选取5株H6N6病毒,A/CK/DG/2936/2021(简称DG2936)、A/CK/DG/2953/2021(简称DG2953)、A/CK/GY/4650/2021(GY46500)、A/CK/GY/5088/2021(简称GY5088)、A/CK/GY/5425/2021(简称GY5425)为实验组。另选1株本课题组前期实验验证具有双受体结合特性的H9N2亚型AIV A/DK/ST/3208/2012(简称ST3208)作为阳性对照组。所有病毒在10 d鸡胚扩增培养,收获尿囊液,检测血凝素(hemagglutinin, HA)效价和TCID₅₀滴度。申请并获取广西医科大学医学伦理委员会批准(批准文号:20210101)以及获得患者或其家属的同意与支持

后,于广西医科大学第一附属医院手术期间收取呼吸道组织标本。依《生物安全法》要求,本实验凡涉及活病毒培养均在生物安全二级实验室进行操作。

1.2 主要试剂

犬肾(Madin-Darby canine kidney, MDCK)细胞、人肺癌细胞系(A549)由实验室长期冻存传代获取;人支气管上皮细胞(BEAS-2B)购于上海富生生物科技有限公司;生物素标记聚糖 SA α -2,3 Gal (Neu5Aco2-3Gal β 1-4GlcNAc β -C3-PAA-biotin, 3'SLN)和 SA α -2,6 Gal (Neu5Aco2-6Gal β 1-4GlcNAc β -C3-PAA-biotin, 6'SLN)购于美国 GlycoNZ 公司;辣根过氧化物酶标记的二抗购于美国 Beyotime 生物技术公司;TPCK-胰蛋白酶购于美国 Sigma 公司;甲型流感病毒基因通用引物由中国国家流感中心提供;核酸提取试剂 Trizol 购于 Thermo 公司;PCR 扩增试剂盒购于 Takara 公司;DNA 纯化试剂盒购于 Trans-GEN 公司;免疫组化试剂盒购于迈新生物技术公司;流感病毒核蛋白抗体由厦门大学国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心馈赠。

1.3 受体结合特异性测定

利用固相直接结合实验,分别将6株病毒(5株H6N6病毒、1株阳性对照病毒H9N2)的病毒稀释液(HA效价1:64)加入标记有生物素的聚糖SA α -2,3Gal和SA α -2,6Gal包被于96微孔板中。加入一抗鼠抗H6流感病毒抗体后,再加入二抗HRP-羊抗鼠抗体检测病毒HA抗原,待四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)显色液显色后,用酶标仪测定450 nm波长处吸光度,检测病毒与人型SA α -2,6受体和(或)禽型SA α -2,3受体的结合能力。

1.4 病毒生长动力学检测

以0.01的感染复数(multiplicity of infection, MOI)感染A549、BEAS-2B和MDCK细胞,加TPCK-胰蛋白酶的无血清DMEM溶液,于37 °C、5% CO₂的生化培养箱吸附1.5 h,用PBS洗涤细胞以去除未结合的病毒颗粒,在37 °C和5% CO₂培养箱中孵育。检测接种后12 h、24 h、36 h、48 h和72 h 5个时间点病毒液的TCID₅₀值,绘制病毒生长曲线。

1.5 H6N6病毒在人体呼吸道组织中的复制

广西医科大学第一附属医院提供手术切除呼
吸道组织样本。所选标本均无相关呼吸传染病。
标本采集后立即送往实验室,并去除任何可疑的癌
组织和(或)其他异常组织。将支气管和肺组织切
成 $0.2\text{ cm} \times 0.2\text{ cm} \times 0.2\text{ cm}$ 。选择两块人体支气管和
肺组织来检测样本是否被流感病毒感染。其中一
块被磨碎以分离和培养病毒,另一块用于通过免
疫组织化学检测病毒抗原并确保标本没有受到流
感病毒感染。将支气管和肺组织块放置6孔培养板,
用F-12K组织培养基清洗,加入500 μL 含 10^6 TCID_{50}
的病毒稀释液,在生化培养箱吸附1.5 h,每15 min
轻轻摇晃1次。弃去病毒培养液,用无菌PBS清洗
3次,每孔加入2 mL由F-12K配制的病毒生长液于
细胞培养箱内培养48 h。分别于感染后12 h、24 h
和48 h收集两块组织块,其中一块在冷PBS中研磨
并匀浆,然后收集上清液并接种到MDCK细胞中,
 TCID_{50} 用于测定病毒滴度。另一块用固定液常温固
定24 h,用于病毒蛋白检测。将人呼吸道组织脱水、
包埋并连续切片,然后应用免疫组织化学法检测病
毒蛋白,抗原修复后,分别加入一抗NP(1:500),将
切片在4 °C下孵育过夜,PBS冲洗,滴加二抗羊抗小
鼠特异性生物素复合物(1:50),DAB溶液显色后,
苏木精再染。以细胞核和细胞核周围细胞质呈浅
棕色判断为阳性。

1.6 病毒全基因测序和生物信息学分析

提取病毒RNA,逆转录合成cDNA,经PCR扩
增后回收纯化,病毒基因由 Illumina Solexa 系统测
序。从全球共享流感数据库和GenBank存储H6N6
亚型的基因片段。利用DNAStar软件进行拼接,然
后与参考毒株进行同源性比对,用MEGA X绘制毒
株遗传进化树,使用邻接法(neighbor joining)或最
大似然法(maximum likelihood)绘制各亚型病毒8
个基因的遗传进化树,分析病毒全基因组的核苷酸
同源性及遗传进化,筛选流感病毒关键位点的
改变。

1.7 统计学方法

采用统计软件SPSS 27.0分析结果,基于3次独
立实验的平均值(Mean)和标准差(standard devia-
tion, SD),用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并在图表中
通过误差条展示数据差异;使用单因素方差分析比
较多组间均数,并采用方差齐性结果事后检验(方

差齐-Turkey法;方差不齐-Tamhane-T2法)。以 $P <$
0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 鸡源H6N6病毒受体结合特性

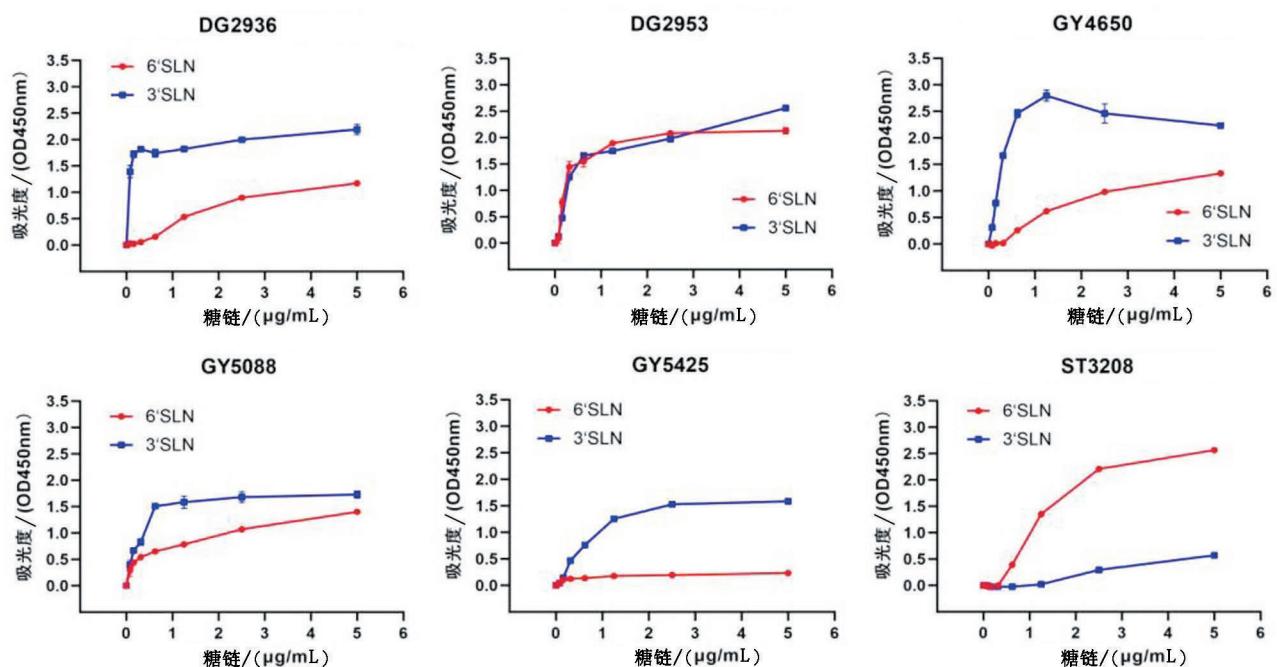
H6N6禽流感病毒在鸡群持续传播,一些病毒
HA受体结合倾向可能从禽型SA α -2,3Gal受体转变
为同时结合人型SA α -2,6Gal受体和禽型SA α -2,
3Gal受体,甚至直接倾向结合人型受体。为检测鸡
源H6N6病毒的受体结合偏向性,应用固相直接结
合法检测6株AIV的受体结合特性,选取同时具有人
型SA α -2,6Gal受体与禽型SA α -2,3Gal受体的
ST3208(H9N2)病毒作为阳性对照,5株H6N6病毒
均具有同时结合禽型和人型受体能力,且禽型受体
结合能力高,其中DG2936、DG2953、GY4650、
GY5088结合人型受体能力较强,而GY5425结合人
型受体能力极弱,不作为后续实验毒株,见图1。

2.2 病毒生长动力学

为评估具有双受体结合能力的鸡源性H6N6
AIV在人源呼吸道细胞和哺乳动物细胞的复制和生
长动力学,4株病毒分别感染A549、BEAS-2B和
MDCK细胞,感染后12 h、24 h、36 h、48 h、72 h收集
培养的细胞上清液并测定其滴度。结果显示,4株
具有双受体结合能力的病毒均可在人呼吸道源呼
吸道细胞A549、BEAS-2B和哺乳动物细胞MDCK
有效复制,在48 h内呈增长趋势,其中DG2953在
A549细胞中的 TCID_{50} 滴度峰值最高,GY5088在
BEAS-2B细胞中的 TCID_{50} 滴度峰值最高,GY5088
在MDCK细胞中的 TCID_{50} 滴度峰值最高,见图2。

2.3 体外感染人呼吸道组织

4株具有双受体结合能力的病毒体外感染人支
气管和肺组织后,在12 h、24 h、36 h、48 h收获其组
织样本,各时间点组织样本研磨液在鸡胚和MDCK
细胞分离培养病毒,结果均为阳性(图3、图4)。为
进一步检测具有双受体结合能力的4株H6N6毒株
是否直接跨种属感染人呼吸道组织,我们利用免
疫组化染色法检测病毒NP蛋白抗原在呼吸道组织中
表达。4株毒株均可在人肺组织中表达NP抗原,在
肺泡细胞和肺泡巨噬细胞中广泛分布,在人支气管
组织,也均出现NP抗原表达,主要表达部位为支气
管上皮细胞,见图5、图6。



5株H6N6病毒均具有同时结合禽型和人型受体能力,DG2936、DG2953、GY4650、GY5088结合人型受体能力较GY5425强。ST3208病毒为阳性对照。红线和绿线分别代表人型受体和禽型受体。

图1 固相直接结合法检测6株AIV的受体结合特性($\bar{x} \pm s, n=3$)

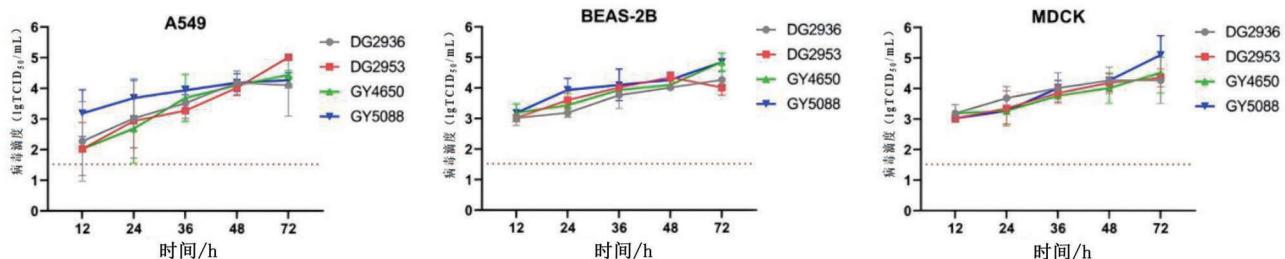
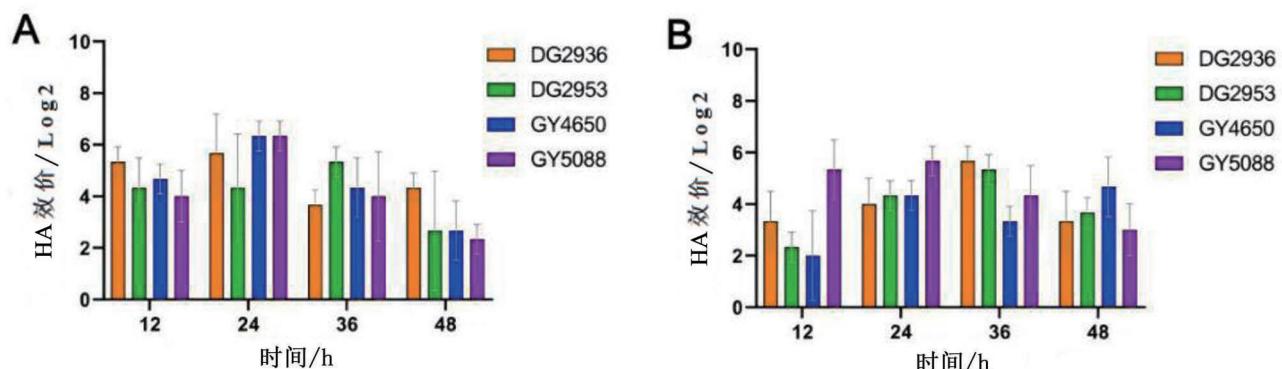
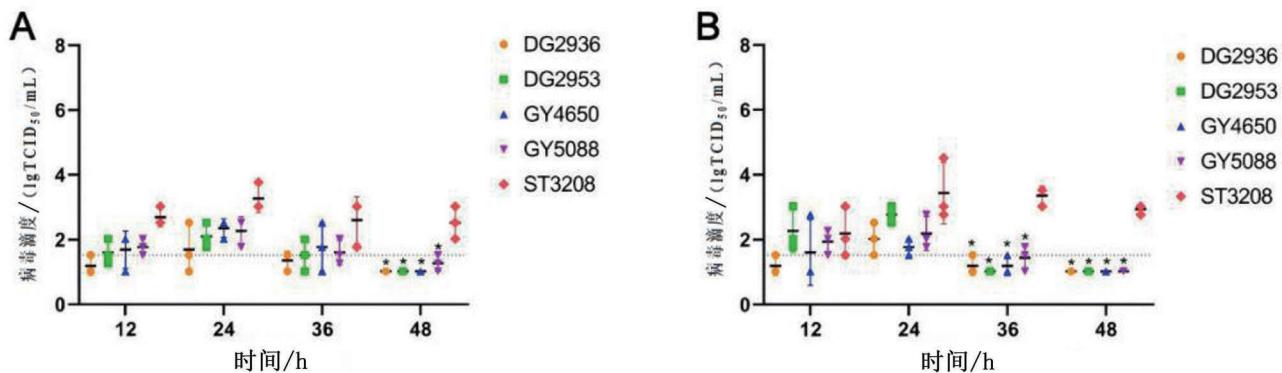


图2 4株H6N6禽流感病毒分别在A549、BEAS-2B、MDCK细胞复制的生长曲线



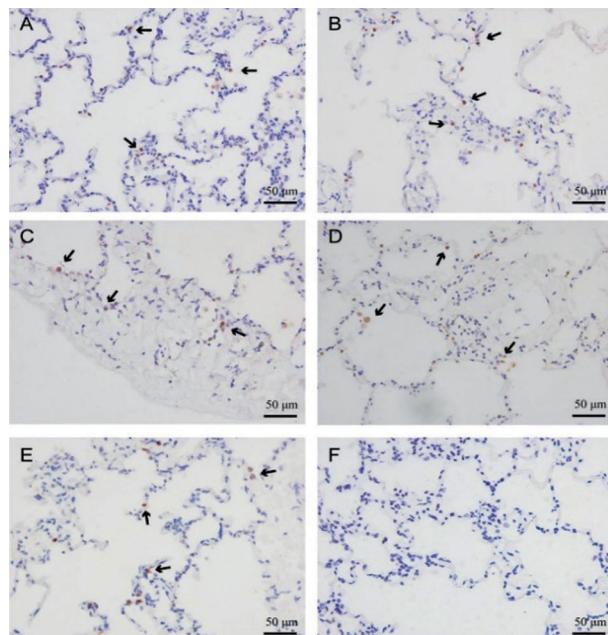
A:病毒感染人肺后组织研磨液在鸡胚中扩增HA效价的变化;B:病毒感染人支气管后组织研磨液在鸡胚中扩增HA效价的变化。

图3 人肺和支气管组织研磨液在鸡胚扩增HA效价



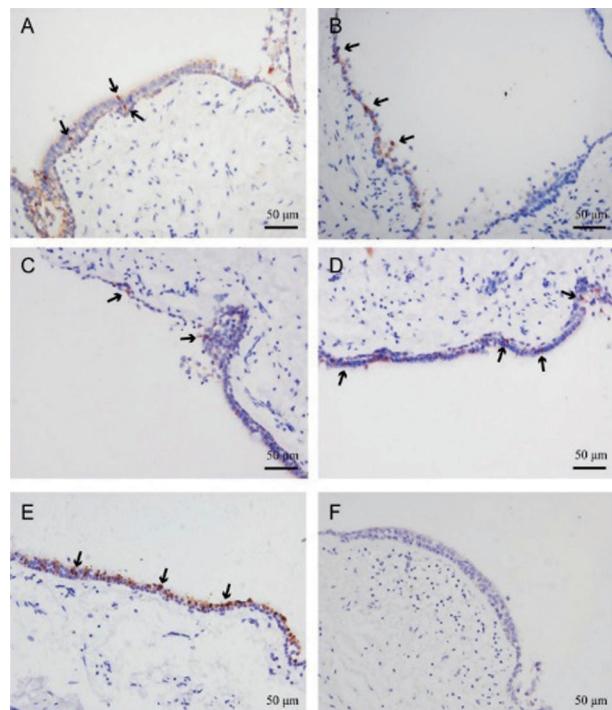
A:病毒感染人肺后组织研磨液TCID₅₀滴度的变化;B:病毒感染人支气管后组织研磨液TCID₅₀滴度的变化。红色虚线代表TCID₅₀试验的检测下限。与阳性对照ST3208在同一时间点进行比较,*P<0.05。

图4 流感病毒体外感染人肺组织和人支气管组织后的病毒TCID₅₀值



A~E 分别为 DG2936、DG2953、GY4650、GY5088 和阳性对照 ST3208 病毒感染后,人肺组织中 NP 抗原表达,F 为空白对照。黑色箭头代表阳性细胞。

图5 人肺组织流感病毒NP抗原免疫组化检测结果



A~E 分别为 DG2936、DG2953、GY4650、GY5088 和阳性对照 ST3208 病毒感染后,人支气管组织中 NP 抗原表达,F 为白色对照。黑色箭头代表阳性细胞。

图6 人支气管组织的流感病毒NP抗原免疫组化检测结果

2.4 病毒遗传进化分析和分子特点

4株病毒全基因组测序并构建系统发育树发现,4株病毒的HA、NA基因均属于欧亚谱系,HA基因与同期东北亚地区韩国分离到野鸭源H6N6亚型AIVs高度同源,并各自在其分离地保持相对独立的进化趋势。GY4650、GY5088病毒株的NA基因与我国东部地区2014年浙江鸡源H6N6亚型AIVs,中部地区2016年江西鸭源H6N6亚型AIVs以及2016

—2017年广东分离到的鸭源H6N6亚型AIVs处于同一分支,但在遗传关系上更接近2014年浙江鸡源H6N6亚型AIVs,推测是其在鸡群中持续传播所形成的结果;与HA类似,DG2936、DG2953的NA基因与同期东北亚地区韩国分离到野鸭源H6N6亚型AIVs高度同源,但并非直接来源,可能是共同起源于2016—2017年广东地区流行的鸭源H6N6亚型AIVs所形成的另一本地区亚分支。对其他6个内

部基因的进化分析证明了这一推论,所有基因均属于欧亚谱系 H6N6 亚型 AIVs。分析与受体结合特异性相关的 HA 受体结合域 190 位螺旋、130 环和 220 环上的关键位点,与促进陆禽传播能力相关的 NA 颈部缺失, PB2 的 E627K、D701N 或 T271K 突变能提高多聚酶活性,有助于增强病毒对哺乳动物的致病性和传播力。4 株病毒 HA 裂解位点处碱基为 PQIETR/GL, 裂解位点为单个碱性氨基酸, 属低致病性禽流感病毒特征。与受体结合特异性相关的 HA 受体结合域发现 H156K、S263K 基因突变。NA 茎区氨基酸没有缺失, PB2、PB1-F2 和 PA 也均没有发生氨基酸位点突变, 见表 1、表 2。

表 1 4 株 H6N6 病毒 HA 的关键氨基酸序列

病毒株	HA											
	224	226	228	186	190	158	137	138	156	263	318	
DG2953	N	Q	G	P	E	T	S	A	K	K	T	
GY5088	N	Q	G	P	E	T	S	A	K	K	T	
GY4650	N	Q	G	P	E	T	S	A	K	K	T	
DG2936	N	Q	G	P	E	T	S	A	K	K	T	
GY5425	N	Q	G	P	E	T	S	A	K	K	T	

表 2 4 株 H6N6 病毒 HA、NA、PB2、PB1-F2 和 PA 的关键氨基酸序列

HA 裂解位点	NA 茎部缺失	PB2			PB1-F2		PA
		627	271	701	66	38	
PQIETR/GLFG	无	E	T	D	N	I	
PQIETR/GLFG	无	E	T	D	N	I	
PQIETR/GLFG	无	E	T	D	N	I	
PQIETR/GLFG	无	E	T	D	N	I	
PQIETR/GLFG	无	E	T	D	N	I	

3 讨 论

H6N6 AIV 在家禽鸡的持续流行和进化演变, 部分病毒获得结合双受体甚至结合人型受体能力, 有进化为溢出感染人的潜能。本课题组前期报道了 H6N1、H6N2 对小鼠的致病性、在猪源、人源肺组织的复制, 表明这些病毒具有感染哺乳和人类的能力^[7-9]。本研究检测了鸡源 H6N6 病毒的受体结合特性, 发现大部分 H6N6 病毒毒株均可同时结合禽型和人型受体, 而且具有双受体结合能力的病毒在人源呼吸道细胞和组织中均能有效复制, 表明其具有潜在的跨种感染人的潜能。研究结果为 H6N6 病毒的监测和控制提供科学依据, 降低其对公共卫生的威胁。

甲型流感病毒的宿主范围主要由病毒 HA 与宿主细胞表面 SA 受体结合能力有关^[10-11]。人流感病毒偏向与人型受体 SA α -2,6Gal 结合, 而 AIV 则偏向与禽型受体 SA α -2,3Gal 结合。水禽肠道中分布着大量禽型受体, 而人类上呼吸道主要分布人型受体, 肺部则主要分布禽型受体^[1,12-13]。因此, AIV、人流感病毒 HA 与不同类型 SA 受体结合以及不同物种病毒受体分布的差异, AIV 难以直接跨物种间屏障感染人。但若 AIV 长期积累适应性突变等而获得结合人型受体的能力, 则可能具有跨种属感染人类的能力。过去 30 年中国禽流感病毒溢出感染人事件与鸡有密切关系, 如 H3N8、H5N6、H7N9、H10N3 病毒感染人^[5-6,14-15]。其原因是, 与水禽动物鸭不同, 鸡 SA 受体分布与人类相似, 鸡呼吸道中同时存在人型受体和禽型受体, 病毒在鸡适应性进化后, 容易感染人, 鸡充当新型禽流感病毒跨种传播人的重要中间宿主^[16]。本文选取 5 株鸡源性 H6N6 亚型 AIV, 固相结合实验显示 5 株病毒均同时与禽型、人型双受体结合。然而, 不同毒株之间结合能力存在差异, 其中以 DG2953 毒株结合人型受体能力最强, GY5088 次之。序列比较和同源性分析病毒 8 个基因节段氨基酸位点的变化, 发现 4 株病毒 HA 受体结合域出现 H156K、S263K 突变, 基于 4 株病毒具有双受体结合能力, 提示该 H156K、S263K 位点突变可能与 H6N6 病毒具有双受体结合能力有关。本课题组在 2014 年中分离到一株鸡源 H6N6 亚型 AIV ZZ346 病毒, 研究发现其具有双受体结合特性、对小鼠及人呼吸道组织的感染能力, 这表明鸡源 H6N6 亚型 AIV 可能已进化成具有感染人的潜能^[17], 与文献报道一些 H6N6 病毒 HA-Q226L/G228S 突变后与人型受体 (SA α -2,6Gal) 高亲和力, 对小鼠致病性增强基本一致^[18]。

为评估具有双受体结合特性的 H6N6 亚型 AIV 感染人的潜能, 基于人支气管等上皮细胞主要分布流感病毒人型受体、肺泡细胞主要分布禽型受体, 将具有双受体结合的病毒株接种于 4 株病毒在人源呼吸道肺泡细胞 A549、支气管上皮细胞 BEAS-2B 和哺乳动物细胞 MDCK 中的复制和生长动力学, 结果显示 4 株病毒均可在这 3 种细胞复制和感染。而且, 我们从组织水平上, 将病毒接种于离体人支气管和肺组织, 检测病毒在人呼吸道组织复制情况, 以进一步验证该类病毒具有同时结合人型和禽型受体, 特别是感染人的能力。实验结果显示, 4 株病

毒均可在离体人支气管和肺组织中复制,符合双受体结合特性。其中结合人型受体能力较好的病毒株DG2953和GY5088在感染人支气管后24 h的HA效价要高于其余2株,而在人肺中却并不明显,我们推测,这可能与病毒提高了结合人型受体能力有关。因此,具有双受体结合能力的鸡源性H6N6病毒可在人呼吸道复制、感染,进一步提高了病毒跨物种感染与传播人的风险。

综上所述,具有双受体结合能力的鸡源性H6N6亚型AIV均已进化为在人呼吸道组织复制的能力,具有感染人类的风险,对人类健康和公共卫生安全形成潜在危害。因此,对H6N6型AIV的起源、进化和传播模式进行全面研究,重点关注驱动跨物种传播的因素,探究人类关键基因感染的变化,为防控H6N6 AIV提供科学的理论支撑。

参考文献:

- [1] TZARUM N, DE VRIES R P, ZHU X Y, et al. Structure and receptor binding of the hemagglutinin from a human H6N1 influenza virus[J]. *Cell host & microbe*, 2015, 17(3): 369-376.
- [2] WANG F, QI J X, BI Y H, et al. Adaptation of avian influenza A (H6N1) virus from avian to human receptor-binding preference[J]. *The EMBO journal*, 2015, 34(12): 1661-1673.
- [3] YAN Z F, LI Y, HUANG S J, et al. Global distribution, receptor binding, and cross-species transmission of H6 influenza viruses: risks and implications for humans[J]. *Journal of virology*, 2023, 97(11): e0137023.
- [4] DU Y Y, XIA J, WANG Z X, et al. Evolution of H6N6 viruses in China between 2014 and 2019 involves multiple reassortment events[J]. *Emerging microbes & infections*, 2024, 13(1): 2341142.
- [5] BI Y H, CHEN Q J, WANG Q L, et al. Genesis, evolution and prevalence of H5N6 avian influenza viruses in China [J]. *Cell host & microbe*, 2016, 20(6): 810-821.
- [6] JIN Y, REN H G, TENG Y, et al. Novel reassortment of avian influenza a(H7N9) virus with subtype H6N6 and H5N6 viruses circulating in Guangdong Province, China [J]. *The journal of infection*, 2017, 75(2): 179-182.
- [7] 何东芳,李周怡,张增峰.鸡源性禽流感病毒H6N2在人源肺组织细胞中的复制[J].广西医科大学学报,2024, 41(3):413-418.
- [8] 李周怡,庞夏凤,钟伟娟,等.2株广西鸭源H6N2亚型禽流感病毒遗传进化以及对BALB/c小鼠的致病性分析[J].广西医科大学学报,2023,40(6):981-990.
- [9] 解 中,钟伟娟,张增峰.鸭源性H6N1亚型禽流感病毒在猪和人呼吸道的复制及其基因特点[J].广西医科大学学报,2023,40(4):618-623.
- [10] LI Y T, LINSTER M, MENDENHALL I H, et al. Avian influenza viruses in humans: lessons from past outbreaks [J]. *British medical bulletin*, 2019, 132(1): 81-95.
- [11] CUI M X, HUANG Y M, WANG X B, et al. Genetic characterization and evolution of H6N6 subtype avian influenza viruses[J]. *Frontiers in microbiology*, 2022, 13: 963218.
- [12] VACHIERI S G, XIONG X L, COLLINS P J, et al. Receptor binding by H10 influenza viruses[J]. *Nature*, 2014, 511(7510): 475-477.
- [13] YANG H, CARNEY P J, CHANG J C, et al. Structure and receptor binding preferences of recombinant hemagglutinins from avian and human H6 and H10 influenza A virus subtypes[J]. *Journal of virology*, 2015, 89(8): 4612-4623.
- [14] ZHAO Z, LUO S, GAO Y, et al. A case report of human infection with avian influenza H10N3 with a complex respiratory disease history[J]. *BMC infectious diseases*, 2024, 24(1):918.
- [15] BAO P, LIU Y, ZHANG X, et al. Human infection with a reassortment avian influenza A H3N8 virus: an epidemiological investigation study [J]. *Nature communications*, 2022, 13(1):6817.
- [16] KUCHIPUDI S V, NELLI R, WHITE G A, et al. Differences in influenza virus receptors in chickens and ducks: implications for interspecies transmission[J]. *Journal of molecular and genetic medicine*, 2009, 3(1):143-151.
- [17] ZHONG W J, GAO L X, WANG X J, et al. Influenza A (H6N6) viruses isolated from chickens replicate in mice and human lungs without prior adaptation[J]. *Journal of virus eradication*, 2022, 8(3): 100086.
- [18] XU X, CHEN Q, TAN M, et al. Epidemiology, evolution, and biological characteristics of H6 avian influenza viruses in China[J]. *Emerging microbes & infections*, 2023, 12(1):2151380.

本文引用格式:

杨振宇,解 中,张增峰.具有双受体结合能力的H6N6禽流感病毒在人源性呼吸道细胞的复制以及基因特点[J].广西医科大学学报,2025, 42(2): 185-191.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.004

YANG Z Y, XIE Z, ZHANG Z F. Replication and genetic characterization of H6N6 avian influenza virus with dual receptor binding properties in human respiratory tract cells [J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2025, 42(2): 185-191.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.004