

崔晶晶, 刘文健, 冯登飞, 等. 我国部分省份鸽副黏病毒 1 型的分子流行病学分析 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (8): 74-81.

CUI J J, LIU W J, FENG D F, et al. Molecular epidemiological analysis of PPMV-1 in some provinces of China [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (8): 74-81.

我国部分省份鸽副黏病毒 1 型的分子流行病学分析

崔晶晶, 刘文健, 冯登飞, 殷海洋, 徐彪,
刘姝慧, 宋素泉, 闫丽萍*

(南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210014)

摘要: 为明确鸽副黏病毒 1 型 (PPMV-1) 流行毒株的遗传特征, 通过 PCR 方法对疑似病料进行 PPMV-1 及其他外源病毒的检测, 并通过绘制遗传进化树及分析其关键氨基酸位点变化对 PPMV-1 毒株进行详尽的遗传进化分析, 以期对 PPMV-1 感染的临床防控提供理论依据。结果: 自 140 份病料中检测到 5 份 PPMV-1 阳性, 与鸽腺病毒 2 型 (PiADV-2)、鸽圆环病毒 (PiCV) 和鸽疱疹病毒 (PiHV) 有不同情况的混合感染, 5 株毒株 F 蛋白裂解位点序列均为¹¹²RRQKRF¹¹⁷, 符合强毒性禽副黏病毒 1 型 (APMV-1) 的特征; 基于 F 基因高变区的遗传进化分析显示, 鉴定到的 5 株 PPMV-1 毒株均属于基因 VI. 2. 1. 1. 2. 2 型, 其中 F 基因的核苷酸同源性为 93.8%~97.3%, HN 基因的核苷酸同源性为 95.7%~99.4%, 上述结果说明基因 VI. 2. 1. 1. 2. 2 型仍是我国 PPMV-1 的优势流行基因型; 与临床常用疫苗株 LaSota 株相比, 5 株毒株 HN 蛋白的中和表位有多处氨基酸突变, 可能导致 LaSota 株不能提供完全保护。综上, 本研究从流行病学调查的角度对 PPMV-1 的流行及关键性抗原蛋白的氨基酸变异情况进行分析, 为 PPMV-1 感染的临床防控及疫苗研发提供了一定理论指导。

关键词: 鸽 1 型副黏病毒; F 基因; HN 基因; 遗传进化; 氨基酸变异

中图分类号: S855.3 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2026)08-0074-08

Molecular epidemiological analysis of PPMV-1 in some provinces of China

CUI Jingjing, LIU Wenjian, FENG Dengfei, YIN Haiyang, XU Biao,
LIU Shuhui, SONG Suquan, YAN Liping*

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China)

Abstract: To clarify the genetic characteristics of prevalent pigeon paramyxovirus type 1 (PPMV-1) strains, PCR was performed, in this study, on suspected clinical samples to detect PPMV-1 and other exogenous viruses. Phylogenetic tree construction and analysis of variations in key amino acid sites were carried out to conduct a detailed genetic evolutionary analysis of the PPMV-1 strains, aiming to provide a theoretical support for clinical prevention and control of PPMV-1. The results showed that 5 out of the 140 clinical samples were positive for PPMV-1, with varying degrees of co-infection with pigeon adenovirus type 2 (PiADV-2), pigeon circovirus (PiCV), and pigeon herpesvirus (PiHV). The F protein cleavage site sequence of all the 5 strains was¹¹²RRQKRF¹¹⁷, consistent with the characteristics of virulent APMV-1. Phylogenetic analysis based on the hypervariable region of the F gene showed that all the 5 PPMV-1 strains belonged to genotype VI. 2. 1. 1. 2. 2. The nucleotide homology of the F gene ranged from 93.8% to 97.3%, and that of the HN gene ranged from 95.7% to 99.4%. These results indicated that genotype VI. 2. 1. 1. 2. 2 remains the dominant epidemic genotype of PPMV-1 in China. Notably, compared with the commonly used vaccine strain LaSota, multiple amino acid mutations were found in the neutralizing epitopes of the HN protein of the 5 strains, which might lead to incomplete protection provided by the LaSota strain. In conclusion, this study analyzed the prevalence of PPMV-1 and amino acid variations in the key antigenic proteins from the perspective of epidemiological investigation, providing certain theoretical guidance for clinical prevention and control of PPMV-1 and vaccine development.

Keywords: PPMV-1; F gene; HN gene; genetic evolution; amino acid variation

收稿日期: 2025-09-04; 修回日期: 2026-05-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32272994)

第一作者: 崔晶晶, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 闫丽萍, 教授, 主要从事重要疫病病原分子流行病学、致病机理、诊断及基因工程疫苗方面的研究, E-mail: yanliping@njau.edu.cn。

鸽副黏病毒 1 型 (pigeon paramyxovirus type 1, PPMV-1) 属于副黏病毒科、禽正腮腺炎病毒属, 是危害鸽健康的重要病原, 感染鸽常呈现头颈扭转、失衡、瘫痪等神经症状和水样腹泻、排绿色稀粪等消化道症状, 给养鸽业造成较大经济损失^[1]。PPMV-1 属于禽副黏病毒血清 1 型 (avian paramyxovirus serotype 1, APMV-1) 基因 VI 型, 其基因组为单股负链 RNA, 包含 6 个开放阅读框 (open reading frame, ORF) 区, 从 3' 端到 5' 端分别编码 6 种结构蛋白: 核衣壳蛋白 (NP)、磷蛋白 (P)、基质蛋白 (M)、融合蛋白 (F)、血凝素神经氨酸酶蛋白 (HN) 和大分子蛋白 (L)^[2], 此外, P 基因额外编码 2 种非结构蛋白 (V 和 W)^[3]。M 蛋白参与囊膜的形成, L 蛋白和 P 蛋白共同构成病毒 RNA 依赖的 RNA 聚合酶, NP、P、L 与病毒基因组 RNA 构成的病毒核糖核蛋白复合体 (ribonucleoprotein complex, vRNPs) 是病毒基因组转录与复制的活性模板^[4]。F 和 HN 蛋白是决定病毒致病性和免疫原性的关键蛋白, 其中 F 蛋白主要介导病毒囊膜与宿主细胞膜的融合, 是影响 APMV-1 致病性的基础^[5-6], 该蛋白是影响 APMV-1 毒力的重要因素之一, 因此受到国内外研究学者的重点关注^[7]; 而 HN 蛋白能与宿主细胞表面唾液酸受体结合, 又能促进与 F 蛋白融合, 大多数 PPMV-1 的 F 蛋白需要与 HN 蛋白协助共表达来促进膜融合^[8]。F 和 HN 蛋白是 PPMV-1 的关键抗原蛋白, 可诱导感染宿主产生中和抗体, 因此 F 和 HN 基因是遗传进化分析的重要分子靶标。

PPMV-1 的流行无明显季节性, 一年四季均有发生, 但春冬季节温度较低, 鸽抵抗力下降, 发病率一般较高^[9]。鸽感染 PPMV-1 后临床症状表现为双侧或单侧翅膀或腿部运动障碍、斜颈和水样绿色腹泻^[10]。PPMV-1 于 20 世纪 70 年代首次在德国被发现, 1977 年传播到中东, 随后迅速传播至欧美等各国, 并导致第 3 次 APMV-1 全球大流行。1985 年 PPMV-1 首次传入我国, 随后在各地相继被报道, 已严重阻碍了我国养鸽业的健康发展。2000 年以后, PPMV-1 亚基因型 VI. 2. 1. 1. 2. 1 和 VI. 2. 1. 1. 2. 2 成为鸽的流行毒株^[11]。在过去十年间, 基因 VI. 2. 1. 1. 2. 2 亚型为我国鸽群的主要流行毒株^[12]。2012—2018 年间, Yu 等^[11]从我国广西养殖场鸽中分离到 18 株 PPMV-1, 其中 5 株属于 VI. 2. 1. 1. 2. 1 亚型, 另外 13 株属于 VI. 2. 1. 1. 2. 2 亚型。2021—2022 年间, 彭真奇等^[12]从我国不同地区分离到 8 株 PPMV-1, 其中 4 株属于 VI. 2. 1. 1. 2. 2 亚型, 另外 4

株属于 VI. 2. 1. 1. 2. 1 亚型。综上所述, PPMV-1 基因亚型 VI. 2. 1. 1. 2. 2 为目前鸽的优势流行基因型。世界范围内 PPMV-1 的流行造成了十分严重的潜在生物安全隐患, 同时其毒力在传播过程中不断增加, 新的变异毒株不断出现, 因此对鸽群疫情的监测尤为重要^[13]。

本研究从南京、无锡、上海、广东、新疆等地疑似发病鸽群中检测到 PPMV-1, 通过 PCR 方法进行鉴定, 并重点对 5 株毒株的 F 和 HN 基因进行序列测定与遗传进化分析, 重点分析 5 株 PPMV-1 与 LaSota 毒株的 F 和 HN 蛋白差异, 从而了解 PPMV-1 的遗传多样性, 为 PPMV-1 的分子流行病学监测和疫苗研发提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 临床样品处理

2024—2025 年间, 从南京、无锡、上海、广东、新疆等地部分肉鸽养殖场采集 140 份样品, 患病鸽出现拉绿色稀粪、头颈扭曲、死亡等异常状况, 剖检肉鸽可见其脑部水肿, 肠道有出血点, 肌胃中可观察到绿色内容物, 肾脏因尿酸盐沉积出现典型的“花斑肾”样剖检病变。取各脏器约 0.5 g, 加入适量无菌 PBS 后冷冻研磨制备组织匀浆, 反复冻融 3 次于 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液 -80 ℃ 保存。

1.2 主要试剂

Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase、总核酸快速提取试剂盒及核酸提取仪、DNA 凝胶回收试剂盒均购自南京诺唯赞生物科技有限公司; Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix、反转录试剂购自翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司; T 载体快速克隆试剂盒购自 TaKaRa 公司。

1.3 引物设计

参考 GenBank 中已经公布的 APMV-1 序列, 利用 Snapgene 软件设计 APMV-1 通用型鉴定引物以及 PPMV-1 特异性引物对收集到的临床病料进行检测, 其中阳性病料继续扩增病毒 F 和 HN 蛋白的完整编码区序列 (CDS), 并参考文献中的鸽腺病毒 1 型 (pigeon adenovirus type 1, PiAdV-1), 鸽疱疹病毒 (pigeon herpesvirus, PiHV), 鸽圆环病毒 (pigeon circovirus, PiCV)^[14] 引物以及实验室合成的鸽腺病毒 2 型 (pigeon adenovirus type 2, PiAdV-2) 引物对病料进行检测。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。引物信息见表 1。

表 1 引物信息

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物大小/bp	用途
1F	GCATTCTGTTTCTACTCAAATGGTC	245	APMV-1 通用鉴定引物
1R	CCCTCCATCATATCTGCATACATCAA		
2F	ATGGACTCCAAACCCACATCAG	532	PPMV-1 鉴定引物
2R	CCACTGCTAGTTGCGATAATCCG		
3F	ATCTATCTTGATTGCTTATAGTCAGTTTACCTGC	1 890	PPMV-1 F 基因全长测序引物
3R	GCAATACACGGGTAGAACGGT		
4F	GCAATACACGGGTAGAACGGT	1 894	PPMV-1 HN 基因全长测序引物
4R	TTGGTGTGCGAGAGATAGGTGAT		
5F	ATGGCTGCGCTCACTCCTGACCTGACTA	351	PiAdV-1 鉴定引物
5R	AGGTCCGCGATCTAGCACGCCCTTGAT		
6F	GAGGACTACTCCGTGTGTCGG	239	PiHV 鉴定引物
6R	ACGCCTTTCATCATCATTTTGCC		
7F	ATGGCTGCGCTCACTCCTGACCTGACTACCGCC	348	PiAdV-2 鉴定引物
7R	AGGTCCGCGATCTAGCACGCCCTTGAT		
8F	GGTTTGCCGTAGCCAGAT	418	PiCV 鉴定引物
8R	CACAGGAGGAGTAGCCGTATT		

1.4 RT-PCR 检测及 F 和 HN 基因全长的扩增

取 1.1 制备的组织研磨液上清液 300 μL，参照总核酸快速提取试剂盒说明书提取总核酸，并按照反转录试剂盒说明书进行反转录。具体步骤：5×gDNA Digester Mix 2 μL，RNA 3 μL，RNase-free H₂O 5 μL，42 ℃ 孵育 2 min；上一步的反应液 10 μL 加入 4×Hi-fair® AdvanceFast SuperMix 5 μL，Random Primers 1 μL，RNase-free Water 3 μL，55 ℃ 5 min，85 ℃ 5 s。反应结束后的产物作为 F 和 HN 基因的扩增模板，用 1.3 设计的引物进行 PCR 反应。PCR 反应体系（50 μL）：2×Phanta Flash Buffer 25 μL，ddH₂O 18 μL，上游引物 2 μL，下游引物 2 μL，模板 2 μL，Phanta Flash Super - Fidelity DNA Polymerase 1 μL。PCR 反应条件：98 ℃ 30 s；98 ℃ 10 s，60 ℃ 5 s，72 ℃ 35 s，进行 30 个循环；72 ℃ 延伸 5 min。反应

结束后取 10 μL 反应产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 F 和 HN 基因遗传进化分析

以 1.4 中测得的 F 基因高变区（47~420 bp）和 HN 基因全长序列为基础，利用遗传进化分析软件 MEGA 6 中的 Clustal W 算法对齐各序列后进行最佳数据模型的计算及同源性分析，基于计算所得的最佳数据模型，通过最大似然法绘制遗传进化树，并以 Bootstrap 算法（1 000 次）检验进化树的可信度，以对阳性样品中的 PPMV - 1 进行基因分型；通过 DNASTar 软件包中的 MegAlign 进行核苷酸序列同源型分析，并对比 F 基因区域氨基酸裂解位点，从氨基酸分子水平上分析毒株的毒力变化。各参考毒株详细信息见表 2。

表 2 PPMV-1 参考毒株信息

毒株名称	基因型	GenBank 登录号	毒株名称	基因型	GenBank 登录号
ulster/67	I	AY562991	PPMV-1-1/QL-01/CH/15	Via	KX065188
LaSota	II	AF077761	PPMV-1-1/SX-01/Ch/15	VI	KX247376
Mukteswar	III	EF201805	Pi/CH/GXG2/2012	VI	MK469969
Herts/33	IV	AY741404	pigeon/China/SDS/2011	VI	JQ993431
Italien	IV	EU293914	KF828884	VI	KF828884
NDV-P05	V	HM117720	Pigeon/China/BJ2013	VI	KJ808819
Pi/CH/LJL/100605	VI	JX486551	Pi/CH/GXG28/2016	VI	MK749301

续表 2

毒株名称	基因型	GenBank 登录号	毒株名称	基因型	GenBank 登录号
JS-07-04-Pi	VI	FJ766527	JS/03/11/Pi	VI	MT811571
JS-07-03-Pi	VI	FJ766531	SD/09/19/pi	VI	MT811586
Pi/Belgium/248VB/1998	VI	EF026583	Pigeon/Hubei/188/2022	VI	OR542541
PPMV-1-1/New York	VI	FJ410145	Pi/SHJS/2023	VI	PP444693
NDV-O5-029	VI	FJ766528	APMV1/Pigeon/NJ/USA/0721/2007	VI. 2. 1. 1. 1	JX901351
Pi/CH/LHLJ/110813	VI	JX486553	APMV1/Pigeon/PA/USA/0810/2008	VI. 2. 1. 1. 1	JX901367
SDLC/2011	VI	JQ979176	NDVstrain sms12 F protein	VI. 2. 1. 1. 2. 1	JX094510
AV324/96	VI	GQ429292	PPMV-1-1/Belgium/98-248/1998	VI. 2. 1. 1. 2. 1	JX901110
DOVE/ITALY/2736/00	VI	AY562989	PPMV-1-1/Belgium/11-09620/2011	VI. 2. 1. 1. 2. 2	JX901124
IT-227/82	VI	AJ880277	Pi/SH/CH/0167/2013	VI. 2. 1. 1. 2. 2	KT163262
NA-1	VII	DQ659677	pigeon/Ningxia/2068/2016	VI. 2. 1. 1. 2. 2	MG840654
ZJ1	VII	AF431744	JS/09/16/Pi	VI. 2. 1. 1. 2. 2	MT811578
China/Guangxi11/2003	VII	DQ485231	JS/05/19/Pi	VI. 2. 1. 1. 2. 2	MT811582
QH1	VIII	FJ751918	pigeon/Nigeria/NIE09-1898/2009	VI. 2. 1. 2	HG326604
QH4	VIII	FJ751919	PPMV-1-1 nucleoprotein gene	VI. 2. 1. 2	JX518532
F48E8	IX	FJ436302	Pigeon/Texas/209682/2002	VI. 2. 2. 1	JN872180
DE-R49/99	Class I	DQ097393	Pigeon/New York/12339/1998	VI. 2. 2. 1	JN872182
D/FJ/1/02	Class I	FJ597580	PG/CH/JS/1/05	VI. 2. 2. 2	FJ480825
JS10_A10	Class I	KT124544	Pigeon/China/100/08	VI. 2. 2. 2	JX244794

1.6 F 和 HN 氨基酸分析

使用 Snapgene 软件，将 F 和 HN 基因核苷酸序列推导为氨基酸序列，参考 LaSota 疫苗株，对 5 株毒株中 F 和 HN 蛋白的糖基化位点、半胱氨酸残基和中和抗原表位进行比较，分析关键氨基酸位点的突变情况。

2 结果与分析

2.1 病料检测

2024—2025 年间，本研究从南京、无锡、上海、广东、新疆等地部分养殖场采集了 140 份病料，病鸽有出现拉绿色稀粪、头颈扭曲、死亡现象，剖检发现

肌胃内容物变绿，脑部水肿，肠道和腺胃有出血点。上述病料中，有 5 个养殖场检测出 PPMV-1 阳性，病毒信息及混合感染其他病毒情况见表 3。

2.2 F 和 HN 基因全长扩增

自各省份同一养殖场的阳性病料中随机选择 1 份强阳性病料，并以实验室病料编号暂时对待毒株进行命名，共挑选 5 株阳性病料，通过结合于 F 和 HN 的 CDS 区侧翼非编码区的引物进行扩增，并对扩增产物进行测序分析，病料均可检测到明亮条带，大小约为 1 890 bp（图 1A）和 1 894 bp（图 1B），与预期结果一致，测序结果分析，5 株毒株均属于 PPMV-1 基因 VI 型。

表 3 临床检测病料结果汇总

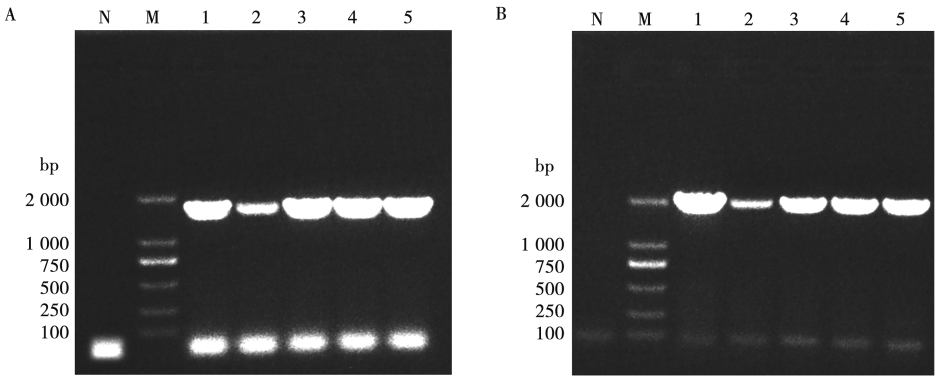
病料编号	来源	时间	PPMV-1 阳性病料占比	混合感染病毒情况
PA117~119	南京	2024 年 12 月	3/3	PiAdV-2、PiCV
PA173~182	无锡	2024 年 12 月	3/10	PiAdV-2、PiHV
PA363~364	湖南	2025 年 03 月	1/2	PiCV
PA365~370	上海	2025 年 04 月	6/6	PiCV
PA414~422	上海	2025 年 05 月	7/9	PiCV

2.3 F 和 HN 基因遗传进化分析

F（图 2）和 HN（图 3）基因的遗传进化分析结果显示，5 份 PPMV-1 病料均属于 VI. 2. 1. 1. 2. 2 亚

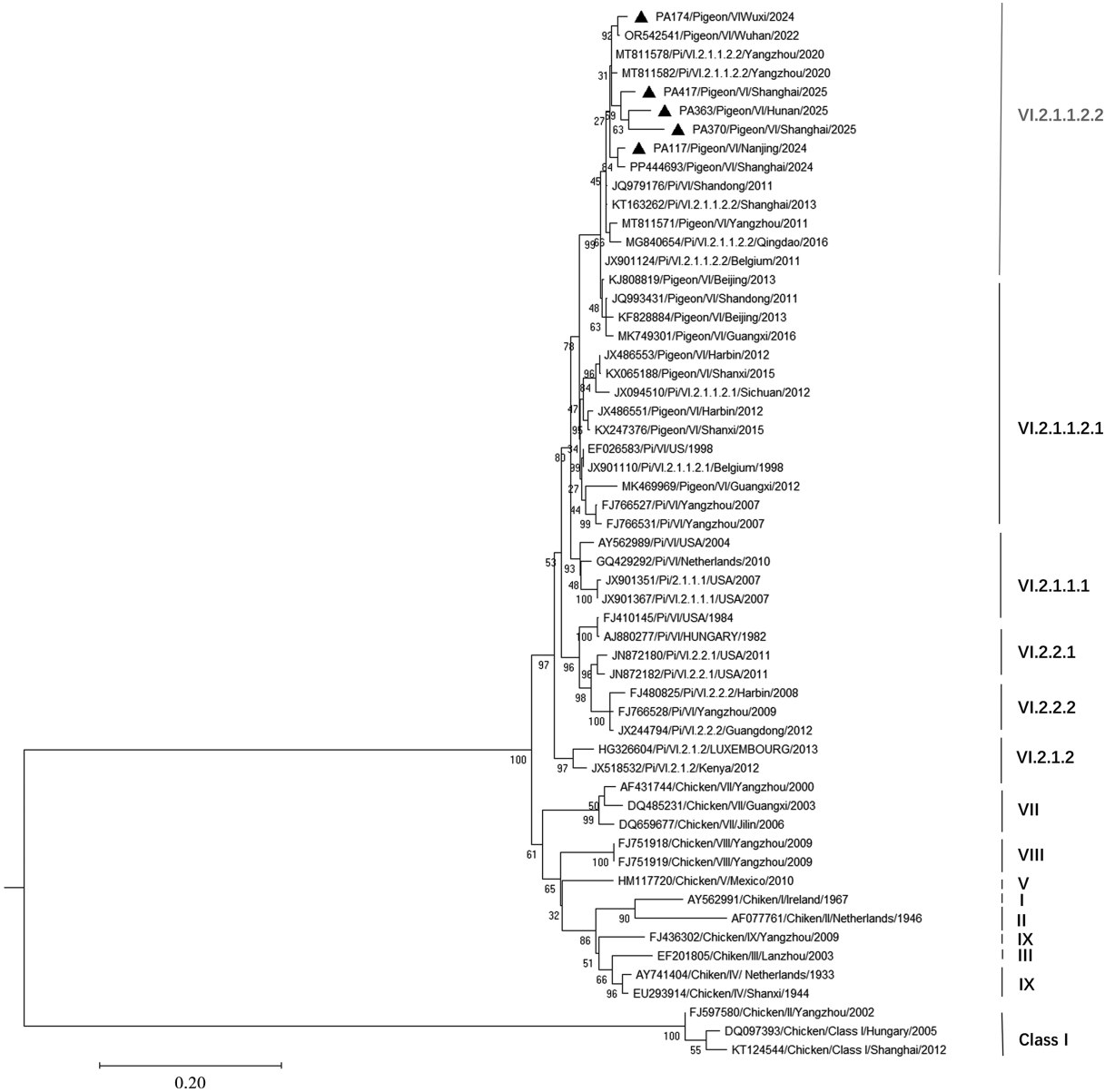
型，核苷酸序列有较大同源性，F 基因的核苷酸同源性为 93.8%~97.3%，HN 基因的核苷酸同源性为 95.7%~99.4%，毒株与临床上常用作疫苗株的基因

Ⅱ型 LaSota 株距离较远，主要保护性抗原 F 基因的核苷酸同源性为 80.9%~82.4%，氨基酸同源性为 84.7%~85.9%。



M. DL2000 DNA Marker; N. 阴性对照; 1. PA117; 2. PA174; 3. PA363; 4. PA370; 5. PA417。

图 1 PPMV-1 阳性病料中 F (A) 和 HN (B) 基因全长 PCR 扩增结果



▲. 本试验毒株。下同。

图 2 PPMV-1 F 基因 (47~420 bp) 遗传进化树

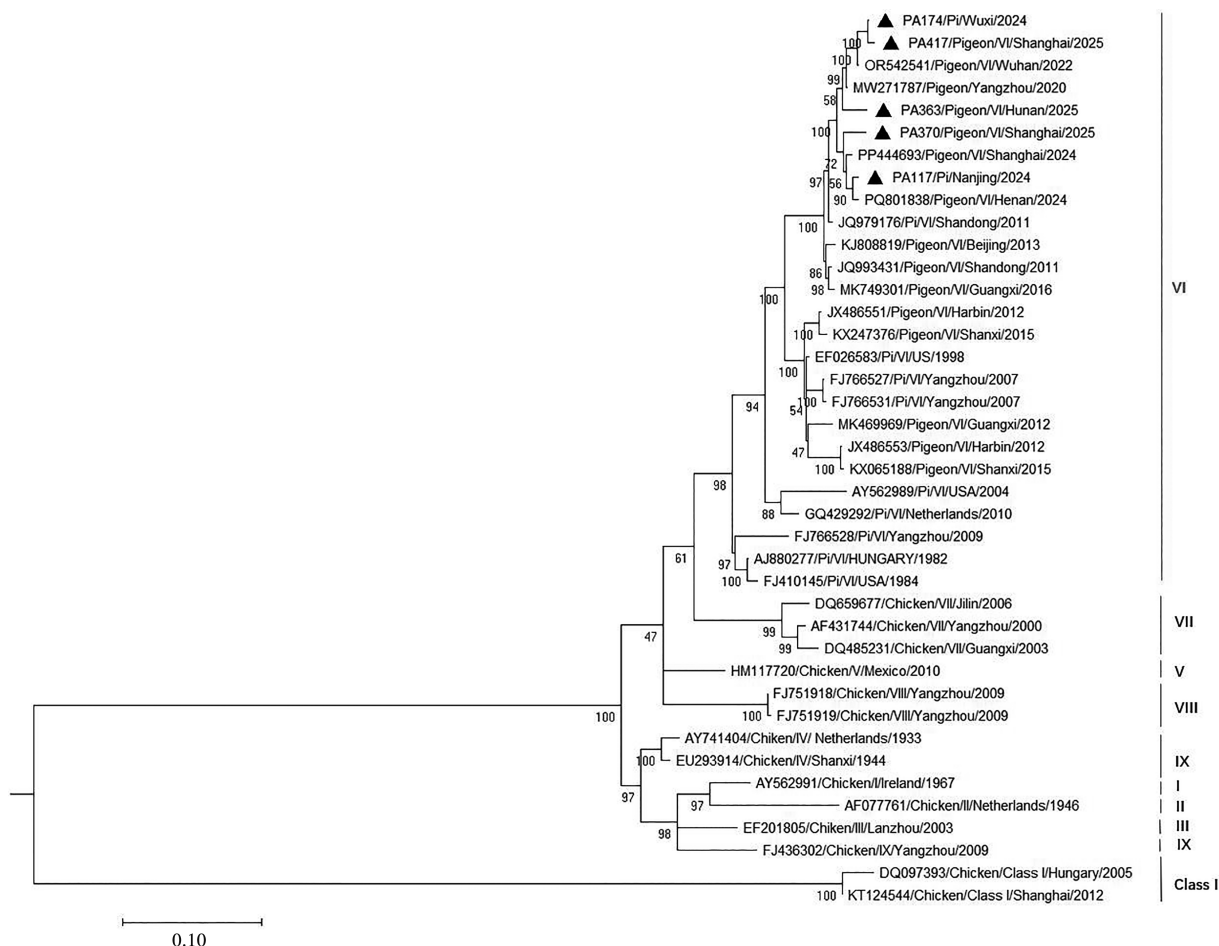


图 3 PPMV-1 HN 基因遗传进化树

2.4 F 和 HN 氨基酸分析

尽管本实验室鉴定到的 5 株 PPMV-1 在遗传进化树上的位置稍有差异，但它们 F 蛋白裂解位点处的氨基酸序列都符合典型的 APMV-1 强毒株的序列特征，即¹¹²RRQKRF¹¹⁷，与近年报道的一致。5 株毒株的 F 蛋白功能区氨基酸变异分析结果（表 4）显示，F 蛋白均有 6 个潜在的 N-糖基化位点（85NRT87、191NNT193、366NTS368、447NIS449、471NNS473、541NNT543）和 13 个高度保守的半胱氨酸残基化位点（分别位于 25、27、76、199、338、347、362、370、394、399、401、424、523 位）。与 LaSota 疫苗株相比，5 株毒株在 F 蛋白信号肽、融合肽、七肽重复区（HR）和跨膜区均有多处氨基酸变异，其中 PA363 和 PA417 有 26 个氨基酸变异，

PA370 有 25 个氨基酸变异，PA117 和 PA174 株有 17 个氨基酸变异。

HN 蛋白跨膜区和中和抗原表位氨基酸变异分析结果（表 5）显示，与 LaSota 疫苗株相比，5 株毒株均包含 5 个潜在的 N-糖基化位点（119NNS121、341NNT343、433NKT435、481NHT483、508NIS510）和 13 个半胱氨酸残基（分别位于 123、172、186、196、238、247、251、344、455、461、465、531 和 542 位）。5 株毒株的 HN 蛋白在跨膜区有多处氨基酸变异，中和抗原表位均包含 R197I、N263K、E347G、D349E、G494D、I514V 这 6 处氨基酸变异，PA117 和 PA370 毒株除携带上述 6 个共有氨基酸变异位点，还增加了 D569K 位点氨基酸变异。

表 4 F 蛋白各区域氨基酸差异

毒株	信号肽区	融合肽区	七肽重复区			跨膜区
	1~25 aa	117~141 aa	HR-A: 143~185 aa	HR-B: 268~299 aa	HR-C: 471~500 aa	501~521 aa
PA117	R4S、T17I、M19I	G124S、A132S	<u>Q143K</u> 、K145N、V179I	T288N	<u>N476H</u> 、N479D、E482A、R486S	V506I、 <u>F514S</u> 、I516A、I520V
PA174	R4S、T17I、M19I	G124S、A132S	<u>Q143K</u> 、K145N、V179I	T288N	<u>N476H</u> 、N479D、E482A、R486S	V506I、 <u>F514S</u> 、I516A、I520V
PA363	R4K、S6H、T7I、K8R、N9I、P12S、M13P、M14T、T16I、I17T、V19I、A20T、C25Y	<u>L117F</u> 、G124S、A132S	K145N、V179I	T288N	N479D、 <u>K480R</u> 、E482A、R486S	V506I、I516A、I520V
PA370	R4K、S6H、K8R、N9T、M13S、M14T、T16I、V19I、A20T	G124S、A132S	K145N、 <u>D170N</u> 、V179I	T288N	<u>N476S</u> 、N479D、 <u>K480R</u> 、E482A、R486N、 <u>V491I</u>	V506I、 <u>V513I</u> 、I516A、I520V
PA417	R4K、S6H、T7I、K8R、N9I、P12S、M13P、M14T、T16I、I17T、V19I、A20T、C25Y	<u>L117F</u> 、G124S、A132S	K145N、V179I	T288N	N479D、 <u>K480R</u> 、E482A、R486S	V506I、I516A、I520V

注：与 LaSota 毒株相比，“-”代表无氨基酸变异，下划线处代表非 5 株 PPMV-1 共有突变。下同。

表 5 HN 蛋白各区域氨基酸差异

毒株	跨膜区	中和抗原表位									
	25~45 aa	193~201 aa	263 aa	287 aa	321 aa	332~333 aa	346~353 aa	356 aa	494 aa	513~521 aa	569 aa
PA117	F31L、S43A、L45V	R197I	K	-	-	-	E347G、D349E	-	D	I514V	K
PA174	<u>I29V</u> 、F31L、S43A、L45V	R197I	K	-	-	-	E347G、D349E	-	D	I514V	-
PA363	F31L、S43A、L45V	R197I	K	-	-	-	E347G、D349E	-	D	I514V	-
PA370	F31L、 <u>V35A</u> 、S43A、L45V	R197I	K	-	-	-	E347G、D349E	-	D	I514V	K
PA417	<u>I29V</u> 、F31L、 <u>A42T</u> 、S43A、L45V	R197I	K	-	-	-	E347G、D349E	-	D	I514V	-

3 讨论

自 20 世纪以来，不断有关于 PPMV-1 在世界各地大流行的报道出现，最初我国预防 PPMV-1 主要通过接种 LaSota 株油乳剂灭活疫苗，此后 LaSota 株及其克隆株的活疫苗也被应用到了 PPMV-1 的日常防控中^[9]。国家 APMV-1 参考实验室的长期监测数据显示，近年来我国 PPMV-1 流行率有升高的趋势^[11]，其主要原因可能是 LaSota 株与 PPMV-1 流行毒株抗原性匹配不佳^[8]，而这种抗原选择压力可能促进 PPMV-1 的进化^[15]，进一步增加 PPMV-1 防控的难度和复杂程度。值得注意的是，LaSota 株虽然与 PPMV-1 遗传进化关系较远，免疫 LaSota 株疫苗仍可提供一定的保护，但不能完全阻止排毒^[16-17]，这

可能是导致 PPMV-1 在 LaSota 株疫苗高免鸽场传播的重要原因之一。而多项研究表明，使用基因型匹配的疫苗可以显著减少排毒，两种抗原匹配的疫苗分别显示出减少基因 VII 型和 V 型排毒的能力增强^[18-19]。因此，展开对 PPMV-1 流行毒株的监测，分析其与 LaSota 株抗原性差异的具体分子机制，以指导开发与现有流行毒株抗原性相匹配的疫苗株，是控制 PPMV-1 疫情传播的重要思路。

基于此，为了初步解析我国 PPMV-1 的流行情况及 LaSota 株不能提供良好保护的原因，本研究对部分 LaSota 株疫苗免疫鸽场的 PPMV-1 进行了遗传进化分析。相关结果显示，本研究鉴定的 5 株 PPMV-1 的 F 蛋白裂解位点均为¹¹²RRQKR¹¹⁷，具备典型 PPMV-1 强毒特征，且均属于基因亚型

VI.2.1.1.2.2, 这说明基因亚型 VI.2.1.1.2.2 仍是我国的 PPMV-1 优势流行基因型^[11]。鉴于体液免疫在 PPMV-1 防控中发挥的关键作用, 本研究随后着重分析了能够诱导中和抗体产生的关键抗原蛋白 F 蛋白及 HN 蛋白的氨基酸位点变异情况。相关研究结果显示, 和 LaSota 株相比, 本研究鉴定的 5 株 PPMV-1 的 F 和 HN 蛋白功能域出现多个氨基酸突变: F 蛋白的突变主要集中于融合肽区、七肽重复区、跨膜结构域, 其改变可能会影响 F 蛋白的融合活性^[20]; 与中和表位相关的 5~6 个氨基酸突变主要集中于 HN 蛋白, 这些突变可能会影响中和抗体对于 HN 蛋白的结合, 从而促使 PPMV-1 逃逸 LaSota 株疫苗诱导的中和抗体作用^[21-22]。

综上所述, 本研究自临床病料中鉴定到 5 株 PPMV-1 病毒, 其 F 蛋白氨基酸裂解位点均为¹¹²RRQKRF¹¹⁷, 具有强毒分子特征, 均属于 APMV-1 基因 VI.2.1.1.2.2 亚型, 其中 HN 蛋白中和抗原表位存在多处氨基酸变异, 这可能是导致 LaSota 株不能提供良好保护的重要原因, 但具体的分子机制仍需通过生物信息学和反向遗传学进一步验证, 以期为开发抗原性相匹配的 PPMV-1 疫苗提供良好的理论基础。本研究丰富了我国 PPMV-1 流行病学信息库, 为防控 PPMV-1 流行提供了一定参考。

参考文献:

- [1] 朱贺, 陈礼斌, 林秋燕, 等. 广西 1 株鸽新城疫病毒分离鉴定及其 F 基因序列分析 [J]. 养禽与禽病防治, 2024 (5): 28-36.
- [2] 尹德玮. 鸽 I 型副黏病毒的分离鉴定, 免疫原性研究及全长 cDNA 克隆的构建 [D]. 南宁: 广西大学, 2023.
- [3] ZHAN T, HE D, LU X, et al. Biological characterization and evolutionary dynamics of pigeon paramyxovirus type 1 in China [J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 721102.
- [4] 任金莲. 鸽新城疫病毒致弱株的拯救及其免疫原性的初步评价 [D]. 广州: 华南农业大学, 2021.
- [5] PANDA A, HUANG Z, ELANKUMARAN S, et al. Role of fusion protein cleavage site in the virulence of Newcastle disease virus [J]. Microb Pathog, 2004, 36 (1): 1-10.
- [6] ROMER-OBERDORFER A, WERNER O, VEITS J, et al. Contribution of the length of the HN protein and the sequence of the F protein cleavage site to Newcastle disease virus pathogenicity [J]. J Gen Virol, 2003, 84 (11): 3121-3129.
- [7] BALLAGI-PORDANY A, WEHMANN E, HERCZEG J, et al. Identification and grouping of Newcastle disease virus strains by restriction site analysis of a region from the F gene [J]. Arch Virol, 1996, 141 (2): 243-261.
- [8] 赵振振. 2011—2015 我国部分地区鸽源新城疫病毒分子流行病学调查及鸽新城疫疫苗 VIIb-I4 的免疫效力试验 [D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [9] 李静, 张悦. 鸽新城疫流行与防控 [J]. 中国动物保健, 2024, 26 (3): 61-63.
- [10] GUO H, LIU X, HAN Z, et al. Phylogenetic analysis and comparison of eight strains of pigeon paramyxovirus type 1 (PPMV-1) isolated in China between 2010 and 2012 [J]. Arch Virol, 2013, 158 (6): 1121-1131.
- [11] YU X, LUO Y, WANG J, et al. A molecular, epidemiological and pathogenicity analysis of pigeon paramyxovirus type 1 viruses isolated from live bird markets in China in 2014-2021 [J]. Virus Res, 2022, 318: 198846.
- [12] 彭真奇, 于晓慧, 邢安琪, 等. 2021—2022 年我国 8 株鸽新城疫病毒基因组特征 [J]. 中国动物检疫, 2023, 40 (2): 1-8.
- [13] 蔡琳琳, 梁健鹏, 向斌, 等. 鸽新城疫流行病学 [J]. 养禽与禽病防治, 2020 (11): 25-29.
- [14] 何宇. 南京地区鸽腺病毒的流行病学调查及 Hexon 基因单克隆抗体的制备 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [15] KAPCZYNSKI D R, KING D J. Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak [J]. Vaccine, 2005, 23 (26): 3424-3433.
- [16] 陆儒杰, 武小琰, 黄纪徽, 等. 鹅源 NDV 基因 VII 型致弱株的构建及其生物学特性 [J]. 南京农业大学学报, 2026, 49 (2): 364-372.
- [17] HU S, MA H, WU Y, et al. A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics [J]. Vaccine, 2009, 27 (6): 904-910.
- [18] MILLER P J, ESTEVEZ C, YU Q, et al. Comparison of viral shedding following vaccination with inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses [J]. Avian Dis, 2009, 53 (1): 39-49.
- [19] UMALI D V, ITO H, SHIROTA K, et al. Characterization of complete genome sequence of genotype VI and VII velogenic Newcastle disease virus from Japan [J]. Virus Genes, 2014, 49 (1): 89-99.
- [20] CHO S H, KIM S J, KWON H J. Genomic sequence of an antigenic variant Newcastle disease virus isolated in Korea [J]. Virus Genes, 2007, 35 (2): 293-302.
- [21] CHO S H, KWON H J, KIM T E, et al. Variation of a newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase linear epitope [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46 (4): 1541-1544.
- [22] HU S, WANG T, LIU Y, et al. Identification of a variable epitope on the Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase protein [J]. Vet Microbiol, 2010, 140 (1/2): 92-97.