

林希, 刘若寒, 郝香琪, 等. 广东地区犬瘟热病毒血凝素基因的克隆与序列分析 [J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(6): 22-28.  
LIN Xi, LIU Ruohan, HAO Xiangqi, et al. Cloning and sequence analysis of haemagglutinin gene of canine distemper virus in Guangdong area [J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(6): 22-28.

# 广东地区犬瘟热病毒血凝素基因的克隆与序列分析

林 希, 刘若寒, 郝香琪, 郑清栩, 陶 攀, 周 沛, 李守军

(华南农业大学 兽医学院/广东省兽医临床重大疾病综合防控重点实验室, 广东 广州 510642)

**摘要:**【目的】对广州和东莞市宠物犬感染犬瘟热病毒 (CDV) 的情况进行病原鉴定和分析, 为监测 CDV 的遗传变异情况和防治犬瘟热 (CD) 提供数据基础。【方法】从表现 CD 症状的犬只中鉴定了 17 份 CDV 阳性样本, 采用 RT-PCR 的方法克隆得到这些野毒株的血凝素 (*H*) 基因序列, 采用生物信息学方法进行序列比对分析。【结果】17 株 CDV 的 *H* 基因核苷酸与氨基酸序列的相似性分别为 97.4%~100.0% 和 97.5%~100.0%, 与 Onderstepoort、Lederle 和 Convac 等疫苗株相比, 其核苷酸与氨基酸序列相似性分别为 90.3%~91.5% 和 89.4%~90.8%。进化树分析结果显示, 17 株 CDV 野毒株均属于 Asia I 型, 与疫苗株的分支较远; 本研究鉴定的野毒株已进化形成 9 个潜在的 N-糖基化位点。【结论】Asia I 型 CDV 仍为该地区的流行基因型, 基因型较稳定, 但与疫苗株相比形成了一定的进化距离和出现了大量的变异。因此, 继续监控 CDV 在犬群中的进化, 掌握其遗传变异状况具有重要意义。

**关键词:** 犬瘟热病毒; 犬瘟热; 血凝素基因; 序列分析; 变异

中图分类号: S852.65

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2019)06-0022-07

## Cloning and sequence analysis of haemagglutinin gene of canine distemper virus in Guangdong area

LIN Xi, LIU Ruohan, HAO Xiangqi, ZHENG Qingxu, TAO Pan, ZHOU Pei, LI Shoujun

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University/Guangdong Provincial Key Laboratory of Prevention and Control for Severe Clinical Animal Diseases, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** 【Objective】To perform etiological investigation of canine distemper virus (CDV) infection in dogs from Guangzhou and Dongguan, monitor the genetic evolution of canine CDV, and provide a data basis for the prevention and control of canine distemper (CD). 【Method】Seventeen CDV positive samples were identified from dogs with CD symptoms. The haemagglutinin (*H*) genes of these wild strains were obtained by RT-PCR, and the *H* gene sequences were compared and analyzed through bioinformatics approach. 【Result】The similarities of nucleotide and amino acid sequences of *H* genes from 17 CDV strains were 97.4% to 100.0% and 97.5% to 100.0%, respectively. Compared with vaccine strains such as Onderstepoort, Lederle and Convac, the similarities of nucleotide and amino acid sequences of *H* genes from these CDV strains were 90.3% to 91.5% and 89.4% to 90.8%, respectively. Phylogenetic tree analysis showed that 17 CDV wild strains belonged to Asia I subtype and were distant from the vaccine strains. The identified wild strains had evolved to containing nine potential N-glycosylation sites. 【Conclusion】Asia I CDV is still an epidemic subtype in this region and this

收稿日期: 2018-12-24 网络首发时间: 2019-10-28 09:20:08

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20191025.0844.006.html>

作者简介: 林 希 (1995—), 女, 硕士研究生, E-mail: [1952963387@163.com](mailto:1952963387@163.com); 通信作者: 李守军 (1968—), 男, 教授, 博士, E-mail: [shoujunli@scau.edu.cn](mailto:shoujunli@scau.edu.cn)

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0501004)

subtype is stable, but it has formed a certain evolutionary distance and a large number of mutations compared with vaccine strains. Therefore, it is of great significance to continue to monitor the evolution of CDV in dog populations.

**Key words:** canine distemper virus; canine distemper; haemagglutinin gene; sequence analysis; variation

犬瘟热病毒 (Canine distemper virus, CDV) 感染食肉动物可引起高发病率和死亡率的犬瘟热 (Canine distemper, CD)。临床上, 通常表现为发热、厌食、流鼻涕、结膜炎和腹泻, 有的还引起角化过度和中枢神经系统症状, 导致机体淋巴细胞减少和急性期淋巴细胞增殖抑制<sup>[1]</sup>。由 CDV 引起的疾病已有数百年的历史, 其自然宿主已由传统的犬科 Canidae、浣熊科 Procyonidae 和鼬科 Mustelidae 扩大到猫科 Felidae、灵猫科 Viverridae 等所有陆地食肉动物, 此外也有偶蹄目 Artiodactyla、海豹和非洲灵长类自然感染 CDV 的报道<sup>[2-3]</sup>。据历史记载, CD 最早发现于南美洲大陆, 在 17 世纪期间, CD 从南美洲传播到西班牙, 在 18 世纪传到英格兰、意大利和俄罗斯<sup>[4]</sup>。CD 被认为是世界范围内威胁食肉动物健康的最主要疾病之一。

CDV 属于副黏病毒科 Paramyxoviridae 麻疹病毒属 *Morbillivirus*, 与人类麻疹病毒和牛瘟病毒密切相关<sup>[5-6]</sup>。CDV 粒子呈多形性, 多数为球形, 病毒粒子的直径为 110~550 nm, 大多数在 150~330 nm 之间, 亦有畸形和长丝状的病毒粒子。病毒的基因组由 15 690 个核苷酸组成, 为不分节、非重叠的负链 RNA, 蛋白基因顺序依次为核蛋白 (Nucleoprotein, N 蛋白)、磷蛋白 (Phosphoprotein, P 蛋白) 和基质膜蛋白 (Matrix protein, M 蛋白)、融合蛋白 (Fusion protein, F 蛋白)、血凝素蛋白 (Haemagglutinin protein, H 蛋白)、大蛋白 (Large protein, L 蛋白)。P 基因还编码 2 个非结构蛋白。H 蛋白和 F 蛋白是表面糖蛋白, 负责与宿主细胞膜的附着和融合, F 蛋白是 I 型膜蛋白, 能在中性 pH 条件下使病毒囊膜和宿主细胞质膜融合来介导病毒穿透<sup>[7]</sup>。CDV H 蛋白是由 1 824 nt 基因编码有 607 个氨基酸的蛋白, 相对分子质量约为 76 000~85 000。H 蛋白作为 CDV 的关键蛋白, 在感染的第 1 步与细胞受体结合, 并介导宿主免疫反应<sup>[8]</sup>。H 蛋白抗原变异性最高, 并且可以反映 CDV 毒株的遗传变化进程。对不同动物物种和地理环境的 CDV 毒株的分析表明, 地理隔离是影响 CDV 的 H 基因发生变异的重要因素<sup>[9-11]</sup>。因此, H 基因可用来进行 CDV 毒株鉴定和进化树分析, CDV 毒株的主要遗传谱系包括

American I、American II、Asia I、Asia II、Europe 和 Arctic like<sup>[12-15]</sup>。

CDV 分布广泛, 家犬是 CDV 感染的主要宿主, 野生动物以及野生动物区周围的家养犬通常没有接种疫苗, 人员和物品的流动增加了 CDV 传播的风险<sup>[16]</sup>。尽管疫苗的广泛使用对 CD 的防控起到了重要作用, 但近年来 CDV 的流行率迅速增长, 对全世界毛皮经济动物养殖业和珍稀野生动物造成了极大损失和危害, 而灵长类动物感染的不断出现也引起了人们对 CDV 具有潜在人畜共患病威胁的担忧<sup>[17]</sup>。本研究通过调查广东省部分地区 CDV 的流行情况, 分析病毒 H 基因的遗传进化特性, 为监测 CDV 的遗传进化特征提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病料

2017—2018 年收集了广州市和东莞市的宠物犬病例样本。其中, 17 份为 CD 疑似阳性样本 (眼鼻口分泌物)。

### 1.2 引物设计和病毒鉴定

下载 GenBank 上发表的中国广东、香港、吉林地区 CDV H 基因 ORF 序列, 利用 BioEdit 软件比对后, 使用 NCBI 的在线引物软件设计引物 (CD-F: ATGCTCTCCTACCAAGACAAGG; CD-R: AACGGTTACATGAGAATCTTATACGG), 引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成, PCR 产物长度为 1 824 bp。

用总 RNA 极速抽提试剂盒 (上海飞捷生物科技有限公司) 提取临床病料总 RNA, 获得总 RNA 后, 利用 PrimeScript II RTase 反转录试剂盒 (宝日医生物技术有限公司), 获得其 cDNA。利用 PrimeSTAR® Max DNA Polymerase 试剂盒 (宝日医生物技术有限公司) 扩增 H 基因, 扩增产物用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

### 1.3 H 基因序列分析

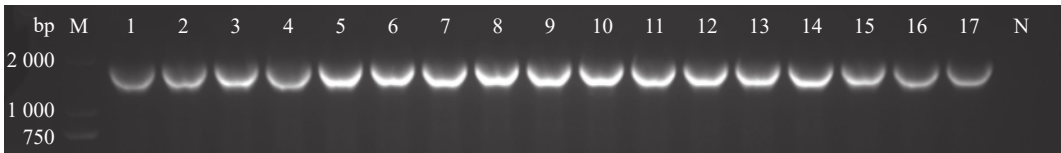
将所得的 17 个野毒株 H 基因 ORF 序列与传统疫苗株 Onderstepoort(EU143737.1)、Lederle (DQ903854.1)、Convac(Z35493.1) 以及不同地区的野毒参考株进行分析, 运用 DNASTAR 中 Megalign

软件计算 *H* 基因 ORF 核苷酸序列及其推导的氨基酸序列的相似性, 使用 MEGA7 绘制基于 CDV *H* 基因的系统进化树, 分析毒株之间的差异性。并利用 NetNGlyc 1.0 Server 在线软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) 预测 H 蛋白的潜在 N-糖基化位点。

## 2 结果与分析

### 2.1 病毒鉴定

对 RT-PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳, 结果如图 1 所示, 17 份样本均为阳性, 条带位置正确。将图中目的片段用胶回收试剂盒分别回收, 然



M: DL2000 DNA marker; 1~17 分别为 GD171、GD172、GD173、GD174、GD175、GD176、GD177、GD188、GD189、GD1810、GD1811、GD1812、GD1813、GD1814、GD1815、GD1816 和 GD1817; N: 阴性对照

M: DL2000 DNA marker; 1~17 represent GD171, GD172, GD173, GD174, GD175, GD176, GD177, GD188, GD189, GD1810, GD1811, GD1812, GD1813, GD1814, GD1815, GD1816 and GD1817 respectively; N: Negative control

图 1 17 株 CDV 野毒株 *H* 基因的 RT-PCR 鉴定

Fig. 1 RT-PCR identification of *H* genes of 17 wild CDV strains

### 2.2 *H* 基因系统进化树分析

获得病毒 *H* 基因 ORF 序列后, 利用 MEGA7 软件对所得的 17 个野毒株 *H* 基因与传统疫苗株 Onderstepoort(EU143737.1)、Lederle(DQ903854.1)、Convac(Z35493.1) 以及不同地区野毒株的 *H* 基因核苷酸序列进行进化树分析。由图 2 可知, 从系统进化树上可分为两大主要谱系, 疫苗株为一分支 (American I), Asia II、Asia I 等其他毒株为另一分支, 并且本研究收集的 17 株 CDV 野毒株均为 Asia I 分支, 与疫苗株不在同一分支。

### 2.3 序列相似性比较分析

序列相似性分析结果表明 (表 1), 17 株 CDV 之间 *H* 基因核苷酸序列及其推导的氨基酸序列的相似性分别为 97.4%~100.0% 和 97.5%~100.0%, 而与疫苗株 Onderstepoort、Lederle 和 Convac *H* 基因核苷酸序列及其推导的氨基酸序列的相似性分别为 90.3%~91.6% 和 89.3%~91.8%。可见, 17 株野毒株之间的序列相似性较高, 但与 3 种传统疫苗株相比, 序列相似性相对较低。

### 2.4 氨基酸序列位点变异分析

将 17 株野毒株的氨基酸序列与参考株进行比对分析, 发现 GD171 在 344 和 601 位氨基酸分别

后送北京六合华大基因科技股份有限公司进行测序, 获得其序列。将获得的 17 株 CDV 命名为 GD171、GD172、GD173、GD174、GD175、GD176、GD177、GD188、GD189、GD1810、GD1811、GD1812、GD1813、GD1814、GD1815、GD1816 和 GD1817。*H* 基因测序结果显示, 17 株 CDV *H* 基因序列长度都为 1 824 bp, 对应编码 607 个氨基酸。上传其序列至 GenBank, 获得的登录号为 MH091812、MH118274、MH118275、MH118276、MH118277、MH118278、MH118279、MH558134、MH558135、MH558136、MK275197、MK275198、MH558137、MH558138、MK275199、MK275200 和 MK275201。

为赖氨酸和组氨酸, 而 Asia I 型毒株和其他分离株分别为精氨酸和丝氨酸; GD171 和 GD172 的第 419 位氨基酸是苯丙氨酸, 而 Asia I 型毒株和其他分离株为亮氨酸; GD1810 和 GD1811 的第 65 位氨基酸是异亮氨酸, 而 Asia I 型毒株和其他分离株为苏氨酸; GD188、GD189、GD1812、GD1813、GD1814、GD1815、GD1816 和 GD1817 的第 502 位氨基酸是精氨酸, 而 Asia I 型毒株和其他分离株为赖氨酸。

### 2.5 H 蛋白潜在的 N-糖基化位点分析

对分离到的野毒株和其他不同基因型 CDV *H* 基因的氨基酸进行潜在的 N-糖基化位点预测, 结果见表 2。由表 2 可知, 第 19、149、422 和 587 位是 26 株 CDV 都含有的潜在的 N-糖基化位点; 疫苗株 Onderstepoort 有 4 个潜在的 N-糖基化位点, Convac 和 Lederle 比其多了第 391、456 以及 603 位潜在的 N-糖基化位点; 本研究分离的 17 株野毒株 (按“2.2”进化树分析证实都为 Asia I 型) 的潜在 N-糖基化位点互为相同, 并且与 Asia I 型相同, 都有 9 个 N-糖基化位点, 比其他野毒株多了第 584 位潜在的 N-糖基化位点; 本研究中涉及的其他野毒株都存在第 19、149、309、391、422、456、587 以及 603 位潜在的 N-糖基化位点。

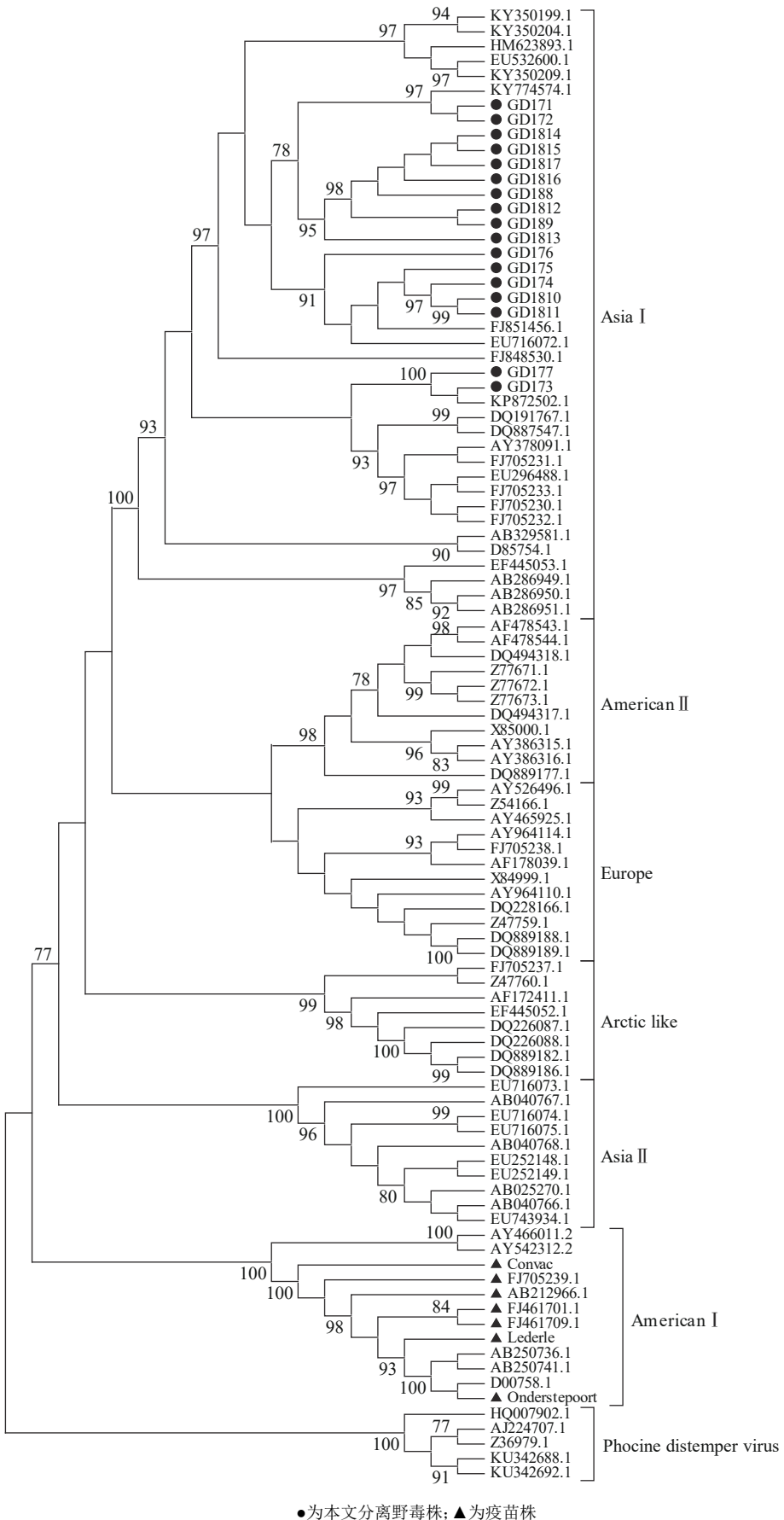


图 2 CDV 野毒株基于 H 基因序列的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of CDV strains based on H gene sequences

表 1 CDV H 基因的核苷酸和氨基酸序列的相似性<sup>1)</sup>

Table 1 Similarities of nucleotide and amino acid sequences of CDV H genes

CDV	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Ond	Con	Led
1		99.6	97.8	98.6	98.5	98.8	97.5	98.9	99.0	98.6	98.6	99.0	98.9	98.9	98.9	98.9	98.9	90.9	91.2	91.3
2	99.6		98.0	98.9	98.7	99.1	97.7	99.1	99.2	98.8	98.9	99.2	99.2	99.1	99.1	99.1	99.2	91.1	91.5	91.5
3	97.6	98.0		97.7	97.6	97.9	99.2	97.6	97.8	97.6	97.7	97.8	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	90.6	90.9	91.0
4	99.1	99.5	97.8		98.9	99.1	97.4	98.4	98.6	99.3	99.4	98.6	98.7	98.4	98.4	98.4	98.5	90.5	90.9	90.9
5	99.1	99.5	97.8	99.3		99.1	97.5	98.6	98.7	98.9	99.1	98.7	98.9	98.6	98.6	98.6	98.7	90.3	90.8	90.7
6	98.8	99.1	97.5	99.0	99.3		97.8	98.8	98.9	99.1	99.2	98.9	99.1	98.8	98.8	98.8	98.9	90.6	91.1	91.1
7	98.0	98.3	99.3	98.1	98.5	98.1		97.5	97.6	97.4	97.5	97.6	97.6	97.5	97.5	97.5	97.6	90.5	90.9	90.8
8	99.1	99.5	97.8	99.3	99.6	99.3	98.5		99.8	98.6	98.5	99.8	99.6	99.8	99.8	99.8	99.9	90.9	91.4	91.3
9	99.1	99.5	97.8	99.3	99.6	99.3	98.5	100.0		98.6	98.7	100.0	99.7	99.9	99.9	99.9	99.9	91.0	91.5	91.5
10	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.5	99.5		99.9	98.6	98.8	98.4	98.4	98.4	98.5	90.4	90.9	90.9
11	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.5	99.5	100.0		98.7	98.9	98.6	98.6	98.6	98.6	90.5	91.0	91.0
12	99.1	99.5	97.8	99.3	99.6	99.3	98.5	100.0	100.0	99.5	99.5		99.7	99.9	99.9	99.9	99.9	91.0	91.5	91.5
13	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.8	99.8	99.6	99.6	99.8		99.6	99.6	99.6	99.7	90.9	91.4	91.4
14	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.8	99.8	99.3	99.3	99.8	99.6		100.0	99.9	99.9	90.9	91.4	91.4
15	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.8	99.8	99.3	99.3	99.8	99.6	100.0		99.9	99.9	90.9	91.4	91.4
16	99.0	99.3	97.6	99.1	99.5	99.1	98.3	99.8	99.8	99.3	99.3	99.8	99.6	99.6	99.6		99.9	90.9	91.4	91.4
17	99.1	99.5	97.8	99.3	99.6	99.3	98.5	100.0	100.0	99.5	99.5	100.0	99.8	99.8	99.8	99.8		91.0	91.5	91.4
Ond	89.8	89.8	89.0	90.0	89.6	89.3	89.3	90.0	90.0	89.6	89.6	90.0	90.0	89.8	89.8	89.8	90.0		97.9	99.2
Con	90.3	90.3	89.5	90.5	90.5	90.1	90.1	90.8	90.8	90.5	90.5	90.8	90.8	90.6	90.6	90.6	90.8	95.6		98.5
Led	90.6	90.6	89.8	90.8	90.5	90.1	90.1	90.8	90.8	90.5	90.5	90.8	90.8	90.6	90.6	90.6	90.8	98.1	97.0	

1) 表中右上方为核苷酸的数据, 左下方为氨基酸的数据; 1~17 分别代表 GD171、GD172、GD173、GD174、GD175、GD176、GD177、GD188、GD189、GD1810、GD1811、GD1812、GD1813、GD1814、GD1815、GD1816 和 GD1817; Ond、Led 和 Con 分别代表 Onderstepoort、Lederle 和 Convac

1) Upper right: Data for nucleotide; Lower left: Data for amino acid; 1-17 represent GD171, GD172, GD173, GD174, GD175, GD176, GD177, GD188, GD189, GD1810, GD1811, GD1812, GD1813, GD1814, GD1815, GD1816 and GD1817 respectively; Ond, Led and Con represent Onderstepoort, Lederle and Convac respectively

表 2 不同基因型 CDV H 基因潜在的 N-糖基化位点统计

Table 2 Summary of potential N-glycosylation sites in H genes from different genotypes of CDV

CDV	基因型 Genotype	潜在的 N-糖基化位点 <sup>1)</sup> Potential N-glycosylation site								
		19	149	309	391	422	456	584	587	603
17 株野毒株 17 wild strains	Asia I	N	N	N	N	N	N	N	N	N
EU532600	Asia I	N	N	N	N	N	N	N	N	N
EU743934	Asia II	N	N	N	N	N	N		N	N
Onderstepo	Vaccine	N	N			N			N	
Convac	Vaccine	N	N		N	N	N		N	N
Lederle	Vaccine	N	N		N	N	N		N	N
AY465925	Asia I	N	N	N	N	N	N		N	N
DQ494318	Asia I	N	N	N	N	N	N		N	N
DQ889188	Asia II	N	N	N	N	N	N		N	N

1) “N” 表示该位点为潜在的 N-糖基化位点

1) “N” indicates this site is a potential N-glycosylation site

### 3 讨论与结论

CDV 是威胁全世界毛皮经济动物养殖业和珍稀野生动物健康最主要的病原之一。因此,持续监控 CDV 在犬群中的进化,掌握其遗传变异状况,具有重要意义。*H* 基因编码 CDV 最重要的抗原蛋白,是研究该病毒遗传进化的主要基因。*H* 蛋白的差异会导致抗原特异性,这使得用单克隆抗体区分野生型和疫苗株 *H* 蛋白成为可能<sup>[18]</sup>。Von Messling 等<sup>[19]</sup>通过反向遗传系统重组的 CDV 病毒与亲本株比较病毒特性,发现病毒的融合性、生长特性和趋向性主要由 *H* 基因介导。不同种属的 CDV *H* 蛋白中的第 549 位氨基酸有显著差异,犬源为 549Y,非犬源多为 549H<sup>[14]</sup>。Nikolin 等<sup>[20]</sup>和 Sekulin 等<sup>[21]</sup>的研究发现,把犬源 CDV *H* 蛋白的第 549 位氨基酸从 Y 替换成 H 后,增加了病毒对其他宿主(猫、师、狨猴)SLAM 的适应性,这证明了第 549 位的突变有可能提高 CDV 对新宿主适应性。因此,通过研究临床上收集到的病料,分析 CDV *H* 基因的抗原性变异是研究 CDV 病毒基因变异的首选。

本研究根据 *H* 基因构建的 CDV 系统进化树显示,分离出的 17 株野毒株均位于 Asia I 分支,表明 Asia I 型 CDV 仍为该地区的流行毒株。序列相似性分析发现,分离的野毒株与疫苗株存在较明显的差异,这可能成为免疫失败的原因之一。尽管疫苗的临床应用表明它对预防 CDV 感染有效,但基于 Asia I 型的新疫苗是否更能保护犬免受 Asia I 型 CDV 的感染值得讨论<sup>[22]</sup>。

*H* 蛋白  $\beta 4$ 、 $\beta 5$  和  $\beta 6$  折叠上第 542~544 中某些氨基酸位点与细胞受体 SLAM 或 nectin-4 结合,进而激活 F 蛋白,继而病毒囊膜和细胞膜融合,使病毒进入细胞内。研究证实 *H* 蛋白 D526、I527、R529 位点是依赖 SLAM 结合促发 F 蛋白构象变化从而引起病毒-细胞融合的关键位点<sup>[23-24]</sup>。除此之外,对 CDV 感染角质细胞的融合过程有重大影响的位点分别是 *H* 蛋白中的 P454、L460、L482、F483、T496、L510、Y520、L522、Y541 和 Y543<sup>[25]</sup>。然而,本研究 17 株野毒株在该位置并无突变,其影响有待进一步探索。另外,17 株野毒株之间也存在部分氨基酸位点差异,这些位点是否具备功能性影响也值得进一步研究。

N-聚糖链以共有序列 N-X-S/T 添加到内质网中的天冬酰胺残基上,其中“X”可以是除了脯氨酸以外的任何氨基酸。N-糖基化是抗原表位一种最重要的修饰,与病毒的毒力密切相关,它对副黏病毒 F 蛋白和 *H* 蛋白的正确折叠、转运和发挥功能

方面有重要作用,F 或 *H* 蛋白至少需要 1 个或 2 个 N-聚糖才能正常发挥作用<sup>[26]</sup>。潜在的 N-糖基化位点分析表明,本研究的 17 株毒株的 *H* 蛋白潜在 N-糖基化位点有 9 个,比最早疫苗株 Onderstepoort 多 5 个,比其他疫苗株多 2 个。这说明犬瘟热病毒仍然保持着较高的变异率,动物饲主和兽医需要保持持续的关注。

#### 参考文献:

- [1] 刘雯,夏志平,靳朝. 犬瘟热研究进展[J]. *动物医学进展*, 2010, 31(8): 83-87.
- [2] 刘玉秀. 犬瘟热病毒敏感细胞系和感染性克隆的构建与初步应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [3] TONG M, YI L, SUN N, et al. Quantitative analysis of cellular proteome alterations in CDV-infected mink lung epithelial cells[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2564.
- [4] BLANCOU J. Dog distemper: Imported into Europe from South America?[J]. *Hist Med Vet*, 2004, 29(2): 35-41.
- [5] DA F B R, STECK A F, NUNES W M, et al. Influence of vaccine strains on the evolution of canine distemper virus[J]. *Infect Genet Evol*, 2016, 41: 262-269.
- [6] DA F B R, VON MESSLING V. Morbillivirus experimental animal models: Measles virus pathogenesis insights from canine distemper virus[J]. *Viruses*, 2016, 8(10): 274.
- [7] KALBERMATTER D, SHRESTHA N, ADER-EBERT N, et al. Primary resistance mechanism of the canine distemper virus fusion protein against a small-molecule membrane fusion inhibitor[J]. *Virus Res*, 2019, 259: 28-37.
- [8] YUAN P, THOMPSON T B, WURZBURG B A, et al. Structural studies of the parainfluenza virus 5 hemagglutinin-neuraminidase tetramer in complex with its receptor, sialyllactose[J]. *Structure*, 2005, 13(5): 803-815.
- [9] MARTELLA V, PRATELLI A, CIRONE F, et al. Detection and genetic characterization of canine distemper virus (CDV) from free-ranging red foxes in Italy[J]. *Mol Cell Probes*, 2002, 16(1): 77-83.
- [10] LI W, LI T, LIU Y, et al. Genetic characterization of an isolate of canine distemper virus from a Tibetan Mastiff in China[J]. *Virus Genes*, 2014, 49(1): 45-57.
- [11] CHEN M, XIN T, HOU S, et al. Genotyping and pathogenic characterization of canine distemper virus based on mutations in the hemagglutinin gene in Chinese domestic dogs[J]. *Pol J Vet Sci*, 2018, 21: 623-629.
- [12] LEDNICKY J A, DUBACH J, KINSEL M J, et al. Genetically distant American canine distemper virus lineages have recently caused epizootics with somewhat different characteristics in raccoons living around a large suburban zoo in the USA[J]. *Virol J*, 2004, 1: 2.
- [13] MARTELLA V, CIRONE F, ELIA G, et al. Heterogeneity within the hemagglutinin genes of canine distemper

- virus (CDV) strains detected in Italy[J]. *Vet Microbiol*, 2006, 116(4): 301-309.
- [14] MCCARTHY A J, SHAW M A, GOODMAN S J. Pathogen evolution and disease emergence in carnivores[J]. *Proc Biol Sci*, 2007, 274(1629): 3165-3174.
- [15] TAN B, WEN Y J, WANG F X, et al. Pathogenesis and phylogenetic analyses of canine distemper virus strain ZJ7 isolate from domestic dogs in China[J]. *Virology*, 2011, 8: 520.
- [16] ALEXANDER K A, MCNUTT J W, BRIGGS M B, et al. Multi-host pathogens and carnivore management in southern Africa[J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2010, 33(3): 249-265.
- [17] DEEM S L, SPELMEN L H, YATES R A, et al. Canine distemper in terrestrial carnivores: A review[J]. *J Zoo Wildl Med*, 2000, 31(4): 441-451.
- [18] HAMBURGER D, GRIOT C, ZURBRIGGEN A, et al. Loss of virulence of canine distemper virus is associated with a structural change recognized by a monoclonal antibody[J]. *Experientia*, 1991, 47(8): 842-845.
- [19] VON MESSLING V, ZIMMER G, HERRLER G, et al. The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity[J]. *J Virol*, 2001, 75(14): 6418-6427.
- [20] NIKOLIN V M, OSTERRIEDER K, VON MESSLING V, et al. Antagonistic pleiotropy and fitness trade-offs reveal specialist and generalist traits in strains of canine distemper virus[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50955.
- [21] SEKULIN K, HAFNER-MARX A, KOLODZIEJEK J, et al. Emergence of canine distemper in Bavarian wildlife associated with a specific amino acid exchange in the haemagglutinin protein[J]. *Vet J*, 2011, 187(3): 399-401.
- [22] LI W, CAI C, XUE M, et al. Phylogenetic analysis of canine distemper viruses isolated from vaccinated dogs in Wuhan[J]. *J Vet Med Sci*, 2018, 80(11): 1688-1690.
- [23] ZIPPERLE L, LANGEDIJK J P, ORVELL C, et al. Identification of key residues in virulent canine distemper virus hemagglutinin that control CD150/SLAM-binding activity[J]. *J Virol*, 2010, 84(18): 9618-9624.
- [24] 苏凤艳, 温铁峰, 宗颖, 等. 犬瘟热病毒水貂株 H 与 F 蛋白基因原核表达重组质粒的构建及表达[J]. *华南农业大学学报*, 2012, 33(3): 417-420.
- [25] LANGEDIJK J P, JANDA J, ORIGGI F C, et al. Canine distemper virus infects canine keratinocytes and immune cells by using overlapping and distinct regions located on one side of the attachment protein[J]. *J Virol*, 2011, 85(21): 11242-11254.
- [26] VON MESSLING V, MILOSEVIC D, CATTANEO R. Tropism illuminated: Lymphocyte-based pathways blazed by lethal morbillivirus through the host immune system[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(39): 14216-14221.

【责任编辑 庄 延】