

PRRSV 逃逸宿主天然免疫的分子机制

吴俊静, 乔 木, 彭先文, 武华玉, 刘贵生, 梅书棋

(湖北省农业科学院 畜牧兽医研究所, 湖北 武汉 430064)

摘要:猪繁殖与呼吸综合症病毒(PRRSV)可破坏机体的天然免疫系统,导致猪的免疫抑制,进而导致继发感染或混合感染,为进一步研究 PRRSV 逃逸宿主天然免疫的分子机制,综述了 PRRSV 抑制 I 型 IFN 的激活及其相关信号通路,逃逸宿主天然免疫系统的多种途径,从而避免 PRRSV 侵染,为 PRRSV 的防控提供分子基础。

关键词:PRRSV;天然免疫;干扰素

中图分类号:S852.65⁺9.6

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)12-0058-04

猪繁殖与呼吸综合症(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS),因发病猪耳部发绀呈紫红色斑块状,又称“蓝耳病”。它是由猪繁殖与呼吸综合症病毒(PRRSV)感染引起的一种传染病,该病主要导致母猪繁殖障碍(流产、死胎和木乃伊胎增多等)、仔猪呼吸道症状和高死亡率以及公猪精液品质下降等^[1]。PRRS 自 1987 年首次在美国发现以来,几年之内席卷了北美洲、欧洲和亚太地区,至今仍在世界范围内流行,被公认为是危害养猪业的头号传染病。特别是 2006 年 5 月以来,由高致病性 PRRSV 引起的突发疫情“高热病”在我国很多省份暴发和流行,给我国养猪业造成了巨大的经济损失^[2-3]。

PRRSV 属于有囊膜的正链单股 RNA 病毒,存在欧洲型和美洲型两类,我国猪群主要感染美洲型。PRRSV 有严格的宿主和细胞嗜性,猪肺泡巨噬细胞(Porcine alveolar macrophage, PAM)是其重要的靶细胞,PRRSV 可破坏机体的免疫系统,导致猪免疫抑制,抗病力下降,容易导致继发感染或混合感染。该文通过对其逃逸宿主天然免疫机制方面的研究,进一步为其防治及免疫提供理论基础。

1 天然免疫系统

天然免疫系统是宿主抵抗病原微生物的第 1 道防线,也是获得性免疫的基础,可识别外源微生物早期感染并诱导炎症反应,在获得性免疫发挥作用之前起到非常重要的作用。天然免疫系统主要由吞噬细胞和抗原递呈细胞介导,通过其表面的 PRRs(Pattern recognition receptors)识别病原中的 PAMPs(Pathogen associated molecular patterns)而被活化,从而激活一系列相关信号通路,诱导 I 型干扰素(IFN)和炎症相关因子表达,产生非特异性抗外源微生物反应^[4]。天然免疫识别是由种系编码的受体介导的,受体特异性是由遗传决定。

2 干扰素(IFN)

干扰素(IFN)是一种具有广谱抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用的细胞因子,是抗病毒天然免疫的核心因子。IFN 通过与细胞膜上特异性受体结合激发信号级联放大反应,并最终将信号传递到胞核内,调控一系列基因表达,激活相应 AVP 表达,发挥抗病毒效应^[5]。IFN 参与不同信号通路,有多重激活机制,然而抗病毒的核心在于 IFN 的激活,以及其下游基因的表达和作用,启动天然免疫抗病毒机制。

2.1 I 型 IFN

I 型 IFN 激活可激发第二波的抗病毒反应,它可诱导下游 300 多个干扰素刺激基因(IFN-stimulated genes, ISGs)的表达,共同保护宿主细胞免受病毒感染,抑制病毒复制,诱导被感染细胞凋亡^[6]。I 型 IFN 是抗病毒天然免疫反应中的关键效应分子,如 IFN- α 、IFN- β 等,它们受到多种转录因子的精细调控,主要包括 IRF 家族成员、

收稿日期:2013-08-08

基金项目:湖北省农业科学院青年基金资助项目(2013 NKYJJ11);动物胚胎工程及分子育种湖北省重点实验室资助项目(2013ZD101)

第一作者简介:吴俊静(1984-),女,湖北省武汉市人,博士,助理研究员,从事猪遗传育种研究。E-mail:jeanne1106@126.com。

通讯作者:梅书棋(1971-),男,湖北省武汉市人,硕士,研究员,从事猪遗传育种、猪新品系及配套选育等方面的研究。E-mail:msqlfe@163.com。

NF- κ B、ATF2 (Activating transcription factor 2)等^[7]。

宿主细胞的 PRRs 主要有 Toll-like receptors (TLRs)、RIG-I-like receptors (RLRs)、Nod-like receptors (NLRs) 和 C-type lectin receptors (CLRs)。不同类型的 PRRs 通过其特定的信号级联反应促使相应的转录因子活化,转录因子再进一步调控下游一系列靶基因的表达,如 I 型 IFNs、IL-8、IL-10、IL-12、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等^[8]。

2.2 I 型 IFN 参与信号通路

I 型 IFN 参与的信号通路包括 JAK-STAT 信号通路、RIG-I 信号通路以及 TLR/NF- κ B 信号通路等。

2.2.1 JAK-STAT 信号通路 JAK-STAT 通路是目前研究最多也是最重要的 IFN 信号通路。IFN- α /IFN- β 与相应受体结合后 JAKs 被激活,活化以后的 JAKs 可磷酸化受体复合物的其它成分和 STATs,STATs 形成二聚体,暴露出入核信号,从而转移至核内,结合顺式 DNA 元件,这一元件存在于 I 型 IFNs 诱导的基因,调节干扰素激活基因表达抗病毒蛋白 (Antiviral protein, AVP)^[9]。在病毒感染的细胞,IFN 能诱导产生多种 AVP,它们可破坏病毒 RNA、抑制病毒转录或蛋白合成,从而发挥抗病毒效应。

2.2.2 RIG-I 信号通路 RIG-I 及其同源物 MDA5 以及 LGP2 检测细胞内 RNA 病毒的受体。这些受体会将病毒入侵的信号通过一个共有的接头分子 IPS-I 传递到下游,并最终诱导 I 型 IFN 的产生和抗病毒免疫反应^[10]。孙岳平等^[11]研究发现,RIG-I 在介导 IFNs 对细胞的抗病毒保护作用方面起十分关键的作用,并参与了 IFNs 对细胞的生长抑制。RIG-I 缺失后 IFNs 对细胞的抗病毒保护作用明显受损,同时细胞的生长抑制也明显减弱。且 RIG-I 缺失后会导致 IFNs 对其下游的细胞因子和趋化因子的诱导作用较正常细胞有明显的下降。说明 RIG-I 在 IFNs 介导的炎症反应中起重要作用。

2.2.3 TLR/NF- κ B 信号通路 TLR 通过选择性地识别 PAMP 的保守结构,实现对入侵病原体的早期识别,激活天然免疫^[12]。在 TLR 识别其相应配体之后,TLR 可招募接头蛋白 MyD88,MyD88 随后可募集 IRAK (IL-1 receptor associated kinase)使干扰素调节因子 (Interferon regu-

lated factor, IRF) 磷酸化,并转移到细胞核内,从而激活转录因子 NF- κ B 和 MAP 激酶等,诱导 IFN 及炎症细胞因子的表达^[13]。

3 PRRSV 破坏宿主免疫系统的分子机制

3.1 PRRSV 影响 I 型 IFN 转录水平的表达

PRRSV 可以抑制 I 型 IFN 的产生,从而破坏宿主免疫系统。许多研究表明,PRRSV 可下调 I 型 IFN 的表达^[14],使宿主失去及时清除入侵病毒的能力。此外,PRRSV 可以长期存在于宿主体内逃避宿主的免疫系统攻击^[15],使宿主持续反复地感染发病。于琳琳^[16]研究发现 PRRSV 感染早期对猪体造成较明显的免疫抑制,感染 7~10 d,猪体免疫力才逐渐表现出恢复的趋势。PRRSV 感染引起猪的呼吸系统障碍,主要是因为诱导许多炎症因子 (IFN- γ 、IL-10、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 以及 IL-12 等) 的表达造成肺组织损伤。研究发现,用 PRRSV 感染 MARC-145 细胞后,INF- α 和 INF- β 表达没有变化,但是用外源性 dsRNA 处理细胞后,能够产生大量的 I 型 IFN;当用 dsRNA 和 PRRSV 同时处理 MARC-145 细胞后,I 型 IFN 产生但很快又受到强烈抑制^[17]。由此可见,PRRSV 感染直接影响了 I 型 IFN 转录水平的表达,逃逸宿主天然免疫反应。

3.2 PRRSV 抑制 IFNs 下游信号通路

用编码猪 IFN- α 的质粒作为免疫佐剂可暂时性加强 PRRSV 疫苗免疫后的免疫应答,但还不足以引起理想的保护性免疫^[18]。Brockmeier 等^[19]发现与直接感染 PRRSV 的猪相比,利用 Ad5-pINF- α 质粒人为上调猪 IFN- α 表达水平后,可延迟病毒血症,降低病毒载量。该方法可在感染早期降低病毒复制,然而并不能有效提高感染中后期整体免疫反应。这可能一方面是外源的 IFNs 无法在猪体内有效持续表达,另一方面是因为 PRRSV 不仅抑制 IFNs 激活,也能抑制 IFNs 下游的信号通路基因 (ISGs) 而抑制免疫应答^[20]。目前,对于 PRRSV 抑制 I 型 IFN 转录及转录后调控的分子机制还知之甚少。Wang 等^[21]发现,天然免疫相关 miR-125b 能显著抑制 PRRSV 的 RNA 复制和病毒增殖,miR-125b 并不是直接作用于 PRRSV 的基因组,而是作用于宿主细胞中 NF- κ B 的抑制因子 κ B-Ras2,通过调控 NF- κ B 信号通路抑制 PRRSV 的增殖。

3.3 Nsp 蛋白抑制 IFN 表达

PRRSV 还可采取多重机制作用 IFN 信号通

路。PRRSV 的多种 Nsp 蛋白均可抑制 IFN 的表达,如 Nsp11 和 Nsp1 β 均可抑制 IRF3 介导的 I 型 IFN 的激活; Nsp1 可通过降解核内 CBP(CREB-binding protein)抑制 IFN 的表达^[22]; Nsp1 α 可抑制 I κ B α 的磷酸化,阻断 NF- κ B 的核转录过程,抑制 IFN- α 的激活^[23]。研究表明,在 PRRSV 感染的早期阶段(感染后 36~48 h) Nsp1、Nsp2 及 Nsp11 可促进病毒性基因和蛋白的表达,并同时抑制 I 型 IFN 的产生及其相关的 IFN 信号通路;而到感染后期, NF- κ B 信号通路将被激活以协助病毒在宿主体内存活^[24]。

4 不同品种猪对 PRRSV 的易感性差异

不同品种猪肺泡巨噬细胞(PAMs)感染 PRRSV 后机体产生 I 型 IFN 的能力有差异,抵抗 PRRSV 感染和抑制 PRRSV 增殖的能力和细胞因子的变化水平均不同^[25]。这是由于不同品种猪对 PRRSV 易感性存在差异,国外引进猪种较中国地方猪种易感。如肖翥^[26]对比分析了 PRRSV 对长白、大白、杜洛克、清平、通城及梅山 6 个品种断奶仔猪的免疫力影响,发现感染后 5~7 d 开始有仔猪死亡,3 个地方品种清平、通城和梅山抵抗力显著高于 3 个国外品种,其中长白猪易感性最高;于琳琳^[16]对比分析了莱芜黑猪与长白猪对 PRRSV 的易感性,同样发现长白猪较敏感,PRRSV 感染后其组织病变明显,而莱芜黑猪组织病变较轻微。

不同 PRRSV 毒株对 IFN- α 的敏感性不同^[27],PRRSV 在不同细胞类型(如 MARC-145 和 PAMs)中激活 IFN- β 的能力也存在差异。如有研究发现 PRRSV 能较弱激活 PAMs 细胞的 IFN- β 表达^[28],而在 MARC-145 细胞中却不能激活 IFN- β 表达^[29]。不同细胞系不同猪种激活 IFN 表达的能力不同,这可能与其 PRRSV 易感性存在密切联系。

5 结论

PRRSV 能破坏宿主猪的免疫系统,因此被比作是猪的“艾滋病”,I 型 IFN 信号通路介导的天然免疫反应是动物机体抵抗病毒的第 1 道防线,而 PRRSV 可以通过多重途径抑制 I 型 IFN 的激活及其下游信号通路,逃逸宿主天然免疫系统。通过对 PRRSV 逃逸宿主天然免疫的分子机制进行总结及阐述,进一步了解 PRRSV 抑制 I 型 IFN 的激活及相关的信号通路,从而掌握其破

坏宿主天然免疫系统的多种途径,为 PRRSV 的防治及免疫提供理论基础。

参考文献:

- [1] Opriessnig T, Baker R B, Halbur P G. Use of an experimental model to test the efficacy of planned exposure to live porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2007, 14 (12): 1572-1577.
- [2] Draayer H A, Jungbäck C. Autogenous vaccines: determining product need and antigen selection, production and testing considerations[J]. *Developments in Biologicals*, 2004, 117: 43-47.
- [3] Molina R M, Chittick W, Nelson E A, et al. Diagnostic performance of assays for the detection of anti-porcine reproductive and respiratory syndrome virus antibodies in serum and muscle transudate(“meat juice”) based on samples collected under experimental conditions[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2008, 20(6): 735-743.
- [4] 李颖. 细胞抗病毒天然免疫信号转导的调控机制[D]. 武汉: 武汉大学, 2011: 13-28.
- [5] 刘梅, 张丽丽, 陈明. 干扰素信号通路及其负调控因素的研究进展[J]. *医学综述*, 2009, 15(19): 2896-2898.
- [6] Sadler A J, Williams B R G. Interferon-inducible antiviral effectors[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2008, 8 (7): 559-568.
- [7] Génin P, Lin R, Hiscott J, et al. Differential regulation of human interferon A gene expression by interferon regulatory factors 3 and 7[J]. *Molecular and cellular biology*, 2009, 29(12): 3435-3450.
- [8] O'Neill L A J, Bowie A G. Sensing and signaling in antiviral innate immunity [J]. *Current Biology*, 2010, 20 (7): 328-333.
- [9] Kong X F, Zhang X X, Gong Q M, et al. MxA induction may predict sustained virologic responses of chronic hepatitis B patients with IFN- α treatment[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2007, 27(9): 809-818.
- [10] Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection[J]. *Nature immunology*, 2006, 7(2): 131-137.
- [11] 孙岳平, 肖家祁, 邹嫣琼, 等. RIG-I 与干扰素信号通路的关系[J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2007, 27 (10): 1210-1214.
- [12] 赵永刚, 周艳春, 李明才, 等. TLR/MyD88 信号通路自身免疫性疾病[J]. *生命的化学*, 2008, 28(4): 457-460.
- [13] O'Neill L A J, Bowie A G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2007, 7(5): 353-364.
- [14] Patel D, Nan Y, Shen M, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus inhibits type I interferon signaling by blocking STAT1/STAT2 nuclear translocation[J]. *Journal of virology*, 2010, 84(21): 11045-11055.
- [15] Costers S, Lefebvre D J, Delputte P L, et al. Porcine repro-

- ductive and respiratory syndrome virus modulates apoptosis during replication in alveolar macrophages[J]. Archives of Virology, 2008, 153(8): 1453-1465.
- [16] 于琳琳. 猪繁殖与呼吸综合征病毒对两种猪致病性及其新型受体阳性细胞定位研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012: 32-44.
- [17] Miller L C, Laegreid W W, Bono J L, et al. Interferon type I response in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected MARC-145 cells[J]. Archives of Virology, 2004, 149(12): 2453-2463.
- [18] Meier W A, Husmann R J, Schnitzlein W M, et al. Cytokines and synthetic double-stranded RNA augment the T helper 1 immune response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2004, 102(3): 299-314.
- [19] Brockmeier S L, Loving C L, Nelson E A, et al. The presence of alpha interferon at the time of infection alters the innate and adaptive immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2012, 19(4): 508-514.
- [20] Sun Y, Han M, Kim C, et al. Interplay between interferon-mediated innate immunity and porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Viruses, 2012, 4(4): 424-446.
- [21] Wang D, Cao L, Xu Z, et al. MiR-125b Reduces Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Replication by Negatively Regulating the NF- κ B Pathway[J]. PloS one, 2013, 8(2): 55838.
- [22] Kim O, Sun Y, Lai F W, et al. Modulation of type I interferon induction by porcine reproductive and respiratory syndrome virus and degradation of CREB-binding protein by non-structural protein 1 in MARC-145 and HeLa cells[J]. Virology, 2010, 402(2): 315-326.
- [23] Song C, Krell P, Yoo D. Nonstructural protein 1 alpha subunit-based inhibition of NF-kappa B activation and suppression of interferon-beta production by porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Virology, 2010, 407: 268-280.
- [24] Sun Y, Han M, Kim C, et al. Interplay between interferon-mediated innate immunity and porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Viruses, 2012, 4(4): 424-446.
- [25] Ait-Ali T, Wilson A D, Westcott D G, et al. Innate immune responses to replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in isolated Swine alveolar macrophages[J]. Viral immunology, 2007, 20(1): 105-118.
- [26] 肖攀. PRRSV 对断奶仔猪生产性能和免疫力相关指标的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 48-54.
- [27] Lee S M, Schommer S K, Kleiboeker S B. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus field isolates differ in in vitro interferon phenotypes[J]. Veterinary immunology and immunopathology, 2004, 102(3): 217-231.
- [28] Ait-Ali T, Wilson A D, Carré W, et al. Host inhibits replication of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus in macrophages by altering differential regulation of type-I interferon transcriptional response [J]. Immunogenetics, 2011, 63(7): 437-448.
- [29] He D, Overend C, Ambrogio J, et al. Marked differences between MARC-145 cells and swine alveolar macrophages in IFN β -induced activation of antiviral state against PRRSV[J]. Veterinary immunology and immunopathology, 2011, 139(1): 57-60.

Molecular Mechanisms of Escaping Host Innate Immune Systems of PRRSV

WU Jun-jing, QIAO Mu, PENG Xian-wen, WU Hua-yu, LIU Gui-sheng, MEI Shu-qi

(Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Hubei Provincial Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430064)

Abstract: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) could destroy innate immune system of pigs, made immune suppression and lead to secondary infection or mixed infection. In order to study the molecular mechanism of PRRSV escaping host innate immune, various pathways of inhibiting the activation of type I interferons and related signaling pathways to avoid the infection of PRRSV in pigs, so as to provide molecular basis for the prevention and control of PRRSV.

Key words: PRRSV; innate immune; interferon