

猪繁殖与呼吸综合征病原学研究进展

梁望旺 杨克礼 伍锐 刘泽文 熊忠良 徐涤平* (湖北省农业科学院畜牧兽医研究所, 湖北武汉 430064)

摘要 综述了猪繁殖与呼吸综合征病毒的病原学研究进展, 为该病的诊断及研究高效的PRRSV 疫苗提供了理论依据。

关键词 繁殖与呼吸综合征; PRRSV; 病原学

中图分类号 S828 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)36-11845-02

Research Advance in the Biology of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus

LIANG Wang-wang et al (Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan, Hubei 430064)

Abstract In this article the research advance in the etiology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus was summarized and its theory was provided to diagnose PRRS and to investigate high performance vaccine of PRRS.

Key words Porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV; Biology

猪繁殖与呼吸综合征是由猪繁殖与呼吸综合征病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)引起的以母猪繁殖障碍和仔猪呼吸道疾病为特征的传染病。该病几乎在世界各养猪国均有发生, 给养猪业造成巨大的经济损失。笔者就 PRRSV 的病原学的研究现状进行概述, 以期为该病的诊断及高效疫苗的研制提供理论依据。

1 病毒的形态与分类

PRRSV 为单股正链 RNA 病毒, 呈球形, 直径 50~65 nm, 核衣壳呈二十面体对称, 有囊膜, 囊膜表面有纤突。通过对 PRRSV 形态学、基因组结构、ORF 同源性、转录策略、细胞嗜性及抗原性等方面的比较, 发现 PRRSV 与动脉炎病毒关系密切。于是在第十届国际病毒学大会上, 国际病毒分类委员会(ICTV) 将 PRRSV 以及原属于披膜病毒科动脉炎病毒属的马动脉炎病毒(EAV)、乳酸脱氢酶增高症病毒(LDV) 和猴出血热病毒(SHFV) 一同归属到新成立的尼多病毒目(Nidovirales) 的动脉炎病毒科(Arteriviridae) 中^[1-2]。

根据系统发育学分析, PRRSV 可分为 2 个基因型: 以欧洲原型 LV 毒株为代表的基因型和以北美 VR2332 毒株为代表的基因型^[3]。欧洲地区主要流行株为基因型, 而美洲和亚太地区则以基因型为主。仇华吉等^[4-5] 检测 PRRSV 中国分离株, 发现我国主要流行株为基因型。我国 2006~2007 年暴发的“猪高热病”的主要病原“高致病性 PRRSV”也是由基因型变异而来^[6]。

2 致病机理

PRRSV 侵入方式是首先通过呼吸道与猪肺泡巨噬细胞上的受体结合, 然后经胞吞作用进入肺泡巨噬细胞。PRRSV 在进入靶细胞后, 在细胞内迅速增殖, 造成肺泡巨噬细胞的大量破坏, 其比例可由正常的 90% 降至 50% 甚至更少。由于巨噬细胞的大量损失, 使其对异物的非特异性吞噬清除功能大大降低, 释放超氧负离子杀菌的能力也下降, 结果机体的非特异性免疫功能下降, 这就为继发感染创造了有利条件。

随着感染 PRRSV 的肺泡巨噬细胞大量崩溃, 病毒进入血液循环和淋巴循环, 分布到全身各组织器官, 导致全身淋巴结的感染和相应器官的损伤, 并形成病毒血症, 使血清中和抗体滴度下降而不能有效清除血液中的病毒, 造成病毒血

症的持续存在。

3 PRRSV 的体外生长特性

PRRSV 具有严格的宿主范围, 体外培养中, 能在原代猪肺泡巨噬细胞(PAM)、非洲绿猴肾传代细胞系 CL2621 和 Marc-145 中生长增殖。PRRSV 在 PAM 上适应性强, 生长较快, CPE 出现较早(1~4 d), 而在 CL2621 和 Marc-145 上生长稍慢, CPE 出现较晚(2~6 d), 主要表现为细胞圆缩、聚集, 最后崩解脱落^[7]。

4 PRRSV 的分子生物学

PRRSV 基因组全长 15 kb, 含有 8 个开放阅读框架(ORFs), 每个读码框都和相邻的读码框有部分重叠, 可编码 1 种酶和 6 个结构蛋白。

4.1 RNA 聚合酶 PRRSV 的 RNA 聚合酶由占其基因组全长 80% 的 ORF1 编码。ORF1 包括 ORF1a 和 1b, 位于基因组的 5 端。ORF1a 所编码的寡聚蛋白经加工后, 成为 6 个非结构蛋白(Nsp1、Nsp1、Nsp2~5)。其中 Nsp2 在北美洲和欧洲株中有很大的差异, 其氨基酸序列同源性只有 32%, 2006 年在中国大陆流行的高致病性 PRRSV 的 Nsp2 较北美株 VR2332 共缺失了 30 个氨基酸^[6]。人们推测 Nsp2 的差异可能和病毒中的某种功能特异性相关, 并影响 PRRSV 的致病性。

4.2 次要结构蛋白

4.2.1 GP2。由 ORF2 编码的糖基化蛋白, 分子量为 29~30 kDa, 具有 2 个典型的疏水峰和 2 个潜在的 N 端糖基化位点。用抗 GP2 多肽特异性抗血清证明 LV 株的 GP2 能组装进成熟的病毒粒子中, 但通过体内表达发现 GP2 也可出现于内质网上, 这表明 GP2 可能是在内质网上组装后才运输到高尔基体^[8]。

4.2.2 GP3。由 ORF3 编码的变异程度较高的糖基化蛋白, 分子量为 27~29 kDa。GP3 是否存在于病毒粒子中, 目前仍有争议。

4.2.3 GP4。由 ORF4 编码, 为 N 糖基化蛋白, 分子量为 19.6~20.0 kDa, 其在病毒的增殖功能尚不清楚。

4.3 主要结构蛋白

4.3.1 GP5(E 蛋白)。GP5 是由 ORF5 编码的囊膜蛋白, 分子量为 24.5~26.0 kDa, 在各结构蛋白中变异最大。GP5 在 PRRSV 感染的细胞内表达水平较低, 但却是 PRRSV 的主要免疫原性蛋白。有报道证明, 无论在体内还是体外, PRRSV 的中和作用都直接与抗 GP5 蛋白的抗体有关^[9], 而且 GP5 对 T 淋巴细胞增殖反应的刺激作用也仅次于 M 蛋白, 表明 GP5

基金项目 国家支撑计划项目(2006BAD06A18)。

作者简介 梁望旺(1979-), 男, 河南光山人, 硕士, 实习研究员, 从事动物传染病及病原分子生物学研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-08-05

在诱导 PRRSV 特异性细胞免疫中也具有重要作用^[10]。

4.3.2 M 蛋白。M 蛋白是由 ORF6 编码的一种非糖基化的基质蛋白,大小 18 ~19 kDa,是 PRRSV 中最保守的蛋白。M 蛋白沉积于内质网,与 GP5 通过二硫键连接形成异源二聚体,并包装入病毒粒子中,推测这些异源二聚体对病毒的增殖及病毒黏附宿主细胞受体起重要作用^[11]。

4.3.3 N 蛋白。N 蛋白即核衣壳蛋白,由 ORF7 编码,分子量为 14 ~15 kDa,N 蛋白表达量较高,约占病毒粒子蛋白总量的 20% ~40%。N 蛋白的免疫原性极强,至少含有 4 个抗原决定簇。有试验证实,感染 PRRSV 后首先产生的是针对 N 蛋白的抗体,随后才是其他蛋白的抗体,并且抗 N 蛋白的抗体可以持续至少半年以上^[12]。N 蛋白具有较高的保守性,但针对此蛋白的抗体均是非中和性的抗体,针对该蛋白的 ELISA 抗体滴度与血清的中和活性也无相关性。但由于自然感染或人工感染的猪均具十分丰富的 N 蛋白抗体,因此具有较好的诊断学意义。

5 PRRSV 的变异

5.1 基因组变异 大量的氨基酸序列分析表明,PRRSV 基因型和型差异很大,核苷酸序列的同源性 ORF2 为 65% ~67%、ORF3 为 61% ~64%、ORF4 为 63% ~66%、ORF5 为 61% ~63%,且最大的差异被发现于非结构蛋白 2 (Nsp2)。

2006 年 4 月以来,猪“高热病”给我国养猪业造成了巨大的经济损失,其发病率为 50% ~100%,死亡率为 20% ~100%^[13],通过分离株的全基因组测序分析,推测该病的病原——“高致病性 PRRSV”是由基因型 PRRSV HB1 毒株基因变异而来^[6],且主要是 GP5 的广泛氨基酸突变和 Nsp2 的 30 个氨基酸的缺失所致^[6,13]。

5.2 生物学和抗原性变异 不同型的 PRRSV 毒株在细胞嗜性上有一定的差异,LV 在 PAM 原代细胞上增殖较好,而 VR2332 则在 PAM 原代细胞和 3 株传代细胞系 CL2621、Marc-145、CRL11171 上都能很好的增殖。

另外,不同 PRRSV 毒株可制备不同的单克隆抗体,抗 PRRSV GP3、GP4 和 N 蛋白的单克隆抗体与欧洲型和美洲型毒株的反应也不相同,进一步证实了抗原变异不仅存在于欧洲型毒株与美洲型毒株之间,而且在同一型的不同毒株之间也存在抗原变异^[14]。由于 PRRSV 毒株之间存在较大的抗原变异,所以用一种毒株制备的疫苗不可能有效预防不同野毒

株的感染。因此,一种疫苗的保护效率极大程度地依赖于感染毒株与疫苗毒株的抗原相关性,所以未来疫苗的设计应充分考虑到病毒的抗原变异。

综上所述,PRRSV 给养猪业带来了严重的危害,世界各国对该病给予了高度重视并投入大量研究,在病毒的分子生物学研究方面取得了重要进展。但对该病的致病机理、分子免疫基础及免疫抑制、广泛变异性、持续性感染等机理还不是十分清楚,有待人们进一步研究,从而提供确实可靠的保护性疫苗。

参考文献

- [1] CONZELMANN KK, VISSER N, VAN WOENSEL P, et al. Molecular characterization of porcine reproductive and respiratory disease virus, a member of the arterivirus group [J]. *Virology*, 1993, 193: 329-339.
- [2] CAVANAGH D. Nidovirales: A new order comprising coronaviridae and arteriviridae [J]. *Arch Viro*, 1997, 142: 629-633.
- [3] WENSVOORT G, DE KLUYVER EP, ILLJIZE EA, et al. Antigenic comparison of Ictyad virus and swine infertility and respiratory syndrome virus [J]. *J Vet Diagn Invest*, 1992, 4: 134-138.
- [4] 仇华吉, 郭宝清, 童光志, 等. 猪繁殖-呼吸道综合征病毒 (PRRSV) CH1a 株基因型的鉴定 [J]. *中国兽医学报*, 1998(18): 118-121.
- [5] 杨汉春, 高云, 任慧英. 猪繁殖与呼吸综合征病毒分离毒株基因型的鉴定 [J]. *农业生物技术学报*, 1998, 6(4): 327-331.
- [6] KEGONGTIAN, GEORGE F GAO. Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark [J]. *Hosone*, 2007, 2(6): 1-10.
- [7] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997.
- [8] MEULENBERG JIM, PETERSEN DEN BESTEN A. Identification and characterization of a sixth structural protein of Ictyad virus: The glycoprotein GP2 encoded by ORF2 is incorporated in virus particle [J]. *Virology*, 1996, 225: 44-51.
- [9] CONIN P, PRIZADEH B. Seroneutralization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus correlates with antibody response to the GP5 major envelope glycoprotein [J]. *J Vet Diagn Invest*, 1999, 11: 20-26.
- [10] BAUISTA EM, SUAREZ P, MOLITOR TW. T cell responses to the structural polypeptides of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. [J]. *Arch Viro*, 1999, 144: 117-134.
- [11] MARDASSI H, MASSIE B, DEA S. Intracellular synthesis, processing, and transport of proteins encoded by ORFs 5 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. *Virology*, 1996, 221: 98-112.
- [12] NELSON EA, CHRISTOPHER HENNINGS J, BENFIELD DA. Serum immune responses to the proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus [J]. *J Vet Diagn Invest*, 1994, 6: 410-415.
- [13] TONG GZ, ZHOU YJ, HAO XF, et al. Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome, China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(9): 9..
- [14] KATZ JB, SHAFER AL, EERNISSE KA, et al. Antigenic difference between European and American isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) are encoded by the carboxyterminal portion of viral open reading frame 3 [J]. *Vet Microbiol*, 1995, 44: 65-76.
- [4] 孟凡生. 羔羊大肠杆菌病肠毒血病原的分离与鉴定 [J]. *中国草食动物*, 2004, 24(4): 34.
- [5] 圈华, 韩志辉. 小尾寒羊大肠杆菌病病原分离与鉴定 [J]. *中兽医医药杂志*, 2005(3): 33-35.
- [6] 陆承平. 兽医微生物学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2001.

(上接第 11844 页)

- [2] 陆国致, 敬兴吉, 王代宾, 等. 山羊葡萄球菌病的诊治 [J]. *中兽医学杂志*, 2004(5): 22-23.
- [3] 齐青丽, 晁宜林. 羔羊大肠杆菌病的诊治 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2005, 35(4): 58.