

共表达鸡 IL-6 和 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因重组鸡痘病毒免疫抗体消长规律及免疫效力研究

陈素娟[#], 丁彦红[#], 钱程, 柴茂, 彭大新^{*}, 刘秀梵

(扬州大学兽医学院, 农业部畜禽传染病重点开放实验室, 禽类预防医学教育部重点实验室, 扬州 225009)

摘要: 为评价共表达鸡 IL-6 和 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因重组鸡痘病毒(rFPV-AIH5AIL6)的免疫抗体消长规律及免疫效力, 将重组病毒通过颈部皮下注射和翅部皮下注射 2 种不同的免疫途径来免疫鸡群, 结果发现, 2 种免疫途径中, 重组鸡痘病毒对鸡体质量增加均无影响, 而野生型鸡痘病毒均可抑制鸡体质量增加。翅部皮下注射疫苗组能够产生较高的血凝抑制(HI)抗体水平, 免疫 21 d 后抗体水平达到高峰, 28 d 后开始下降, 49 d 时仍保持在一定的水平。免疫 SPF 鸡 21 d 后攻毒, 表明该重组病毒能使经滴鼻攻毒的 SPF 鸡抵抗 H5 亚型 AIV 的致死性攻击, 保护率为 95%, 与油苗组相同, 与单表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因重组鸡痘病毒组(40%)差异显著; 攻毒后 3、5、7 d 采集喉头、泄殖腔棉拭子检测排毒情况, 结果发现第 3 天排毒率最高, 其中 rFPV-AIH5AIL6 免疫组排毒率为最低, 显示 IL-6 在 rFPV-AIH5IL6 免疫过程中起到了免疫佐剂的作用, 这为研制新型的禽流感重组鸡痘病毒疫苗奠定了基础。

关键词: 禽流感病毒; HA 基因; 鸡 IL-6; 重组鸡痘病毒; 佐剂

中图分类号: S852.659.5; S852.659.1

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)04-0596-06

Antibody Dynamics and Protective Efficacy of Recombinant Fowlpox Virus Co-expressing Cytokine IL-6 Gene and HA Gene of H5 Subtype Avian Influenza Virus

CHEN Su-juan[#], DING Yan-hong[#], QIAN Cheng, CHAI Mao, PENG Da-xin^{*}, LIU Xiu-fan
(Key Laboratory of Animal Infectious Disease of Ministry of Agriculture, Key Laboratory for Avian Preventive Medicine of Ministry of Education, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In order to evaluate the antibody dynamic in different immune routes and immune protection of the recombinant fowlpox virus co-expressing cytokine IL-6 gene and HA gene of H5 subtype avian influenza virus (rFPV-AIH5AIL6). Groups of 10-day-old SPF chickens were inoculated by subcutaneous route in the back of neck and wings route with inoculums containing rFPV-AIH5AIL6. There was no significant difference in body weight between the group of rFPV-AIH5AIL6 and the normal control group, but the body weight in group of wild type strain was lower than that of the normal control group. The result of HI antibodies showed that the chickens inoculated subcutaneously by wing route produced higher level HI antibody. HI antibody induced by rFPV-AIH5AIL6 was higher than that induced by rFPV-AIH5A. HI antibody reached a peak at 21 days post vaccination, decreased at 28 days post vaccination, and remained at a certain level at 49 days post vaccination. Another Group of 10-day-old SPF chickens was inoculated by

收稿日期: 2011-08-26

基金项目: 公益性行业科研专项(201003012); 江苏省高新技术研究计划(BG2007336); 国家 863 计划(2011AA10A209); 教育部创新团队(IRT0978); 江苏高校优势学科建设工程; 青蓝工程

作者简介: 陈素娟(1976-), 女, 江苏靖江人, 副教授, 博士, 主要从事预防兽医学研究, Tel: 0514-87979386, E-mail: chensj@yzu.edu.cn; 丁彦红(1986-), 女, 硕士, 主要从事畜禽基因工程疫苗研究。二人共同为第一作者

* 通讯作者: 彭大新, E-mail: pengdx@yzu.edu.cn

subcutaneous route in wings with inoculums containing rFPV-AIH5AIL6. The chickens were challenged with H5 subtype avian influenza virus at 21 days post vaccination. The protection indexes of groups immunized with rFPV-AIH5AIL6 and killed vaccine were 95%, significantly higher than that of other groups. The result of virus shedding showed that the shedding rate of chickens immunized with rFPV-AIH5AIL6 was the lowest. In summary, chicken IL-6 could improve the immune efficacy against AI when it was co-expressed with HA gene in recombinant fowlpox virus. This study paves the way for further development of a new AIV recombinant vaccine.

Key words: avian influenza virus; hemagglutinin; chicken interleukin 6; recombinant fowlpox virus; adjuvant

疫苗的免疫接种在禽流感(Avian influenza, AI)的控制中起着极为重要的作用。以鸡痘病毒(Fowlpox, FPV)载体表达禽流感病毒(Avian influenza virus, AIV)保护性抗原基因研制基因工程疫苗已发展到相当成熟的程度,但现有的重组鸡痘疫苗都存在着易受母源抗体干扰、免疫保护效果不如灭活疫苗的问题。以细胞因子作为免疫佐剂可能是增加疫苗保护力的有效途径之一^[1-2]。

白细胞介素 6(IL-6)是一种多功能的细胞因子,由多种不同类型的细胞产生,又称为 B 细胞分化因子、干扰素 $\beta 2$ 及肝细胞刺激因子。IL-6 在调节机体免疫反应、影响急性期的蛋白应答及造血功能等方面具有重要作用,并具有疫苗佐剂和抗生素替代物的潜能^[3-4]。此外,IL-6 可诱导 B 细胞增殖分化并产生抗体,主要作用于成熟的 B 细胞,产生免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA;可以促进由 PHA 或刀豆球蛋白 A 激活的 T 细胞增殖生长;还可以抑制 Th1 型细胞的分化而促进 Th2 型细胞分化,能够刺激 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白从而促进体液免疫应答^[5]。前期研究构建了共表达 IL-6 和 H5 亚型禽流感 HA 基因的重组鸡痘病毒,作者对该重组鸡痘病毒免疫后的抗体消长规律及免疫保护效力进行了系统的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 毒株和质粒 野生型鸡痘病毒疫苗株(wt-FPV)由本室保存;H5N1 亚型 AIV: A/mallard/Huadong/S/2005 株,经国家流感中心鉴定为 H5N1 亚型,简称 sy 株;H5 亚型 AIV 灭活苗(Killed vaccine)由 sy 株 AIV 尿囊液经灭活后乳化制成。表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因的重组鸡痘病毒 rFPV-AIH5A 由刘武杰等^[6]构建。表达鸡 IL-6 和

H5 亚型禽流感病毒 HA 基因重组鸡痘病毒(rFPV-AIH5AIL6)及单表达鸡 IL-6 基因的重组鸡痘病毒(rFPV-IL6)由云水丽等^[7]构建。

1.1.2 实验动物 SPF 鸡胚购自山东家禽研究所,SPF 鸡由本室孵化。

1.1.3 攻毒 在 ABSL-3 实验室的负压隔离器内进行。

1.2 动物试验

1.2.1 重组病毒免疫抗体消长规律 将 10 日龄白来航 SPF 鸡随机分为 11 组,每组 19 羽,每只鸡称重,于颈部皮下和翅部皮下分别免疫 rFPV-AIH5A、rFPV-AIH5AIL6、rFPV-IL6、wt-FPV、PBS,免疫剂量均为 2×10^4 FPU · 羽⁻¹,同时设 H5 亚型 AIV 灭活油苗对照组。定期采集血清样品以监测 HI 抗体的诱生情况。免疫 21 d 后再次称重,观察不同免疫途径对体增质量的影响。

1.2.2 免疫效力试验 将 10 日龄白来航 SPF 鸡随机分组,每组 20 只,共 8 组,分别于翅部皮下免疫 rFPV-AIH5A、rFPV-AIH5A + rFPV-IL6、rFPV-AIH5AIL6、wt-FPV、rFPV-IL6、PBS,同时设 H5 亚型 AIV 灭活疫苗对照组。每天观察鸡的状态,于免疫后 7、10、14、21 d 采血,分离血清检测 HI 抗体效价。免疫后 21 d,用剂量为 $10^{6.5}$ ELD₅₀ · 只⁻¹的 A/mallard/Huadong/S/2005 株进行滴鼻攻毒,攻毒后 3、5、7 d 采集喉气管、泄殖腔棉拭子,用 10 日龄非免疫鸡胚分离病毒。所有试验鸡于攻毒后持续观察 14 d,记录试验鸡的发病和死亡情况。

2 结果

2.1 SPF 鸡通过不同免疫途径接种重组鸡痘病毒后对体增质量的影响

2 种免疫途径接种重组鸡痘病毒疫苗后,鸡的精神、采食、粪便、呼吸均正常。疫苗免疫 21 d 后,

采用颈部皮下免疫的试验组,重组病毒 rFPV-AIH5A、rFPV-AIH5AIL6、rFPV-IL6 试验组与 PBS 对照组鸡群平均体增质量分别为 154.2、153.7、150.4 与 153.9 g,增质量差异不明显,而 wt-FPV 对照组鸡群平均体增质量为 138.5 g,与其它各试验组

之间体增质量差异显著($P < 0.05$);采用翅部皮下注射免疫的试验组,结果与采用颈部皮下注射免疫试验组的相似。说明野生的鸡痘病毒疫苗株对鸡的体增质量有明显的抑制作用(表 1)。

表 1 SPF 鸡接种疫苗后对鸡体增质量的影响

Table 1 Weight increment of SPF chickens immunized with rFPVs

组别 Group	颈部皮下注射 Subcutaneous injection in the neck			翅部皮下注射 Subcutaneous injection in the wing		
	免疫前体质量 Body weight preimmunization	免疫后 21 d 体质量 Body weight post immunization	体增质量 Body weight gain	免疫前体质量 Body weight preimmunization	免疫后 21 d 体质量 Body weight post immunization	体增质量 Body weight gain
rFPV-AIH5A	73.6±7.6	227.8±25.6 ^b	154.2	74.1±7.8	226.8±23.3 ^b	152.7
rFPV-AIH5AIL6	73.2±8.4	226.9±26.5 ^b	153.7	73.7±6.4	236.7±27.5 ^b	163.0
rFPV-IL6	74.3±7.6	224.7±28.8 ^b	150.4	72.9±8.0	225.5±36.2 ^b	152.6
wt-FPV	75.0±8.2	213.5±26.6 ^a	138.5	74.5±6.7	210.2±22.8 ^a	135.7
PBS	74.8±8.1	228.7±29.3 ^b	153.9	75.7±9.3	224.3±23.7 ^b	148.6
H5 AI killed vaccine	73.6±10.4	223.4±27.6 ^{ab}	149.8			

同列数据上标含有不同字母者表示差异显著($P < 0.05$)。下表同

Different letter denotes statistical difference at $P < 0.05$. The same as blow

2.2 SPF 鸡通过不同免疫途径接种重组病毒体内抗体消长规律

所有疫苗组的抗体呈现先上升、再下降的趋势,7 周仍保持一定的水平。H5 亚型禽流感灭活苗的抗体水平在免疫 10 d 后均显著高于几种重组鸡痘病毒所产生的抗体水平($P < 0.05$);在重组鸡痘苗

中,rFPV-AIH5AIL6 试验组的抗体水平较 rFPV-AIH5A 试验组的高。说明细胞因子起到了免疫佐剂的作用(表 2、表 3)。几种重组鸡痘疫苗采用翅部皮下注射的接种方法诱导产生的禽流感抗体均高于颈部皮下注射的接种方法,说明对于重组鸡痘病毒疫苗来说,翅部皮下注射是比较理想的免疫途径。

表 2 SPF 鸡颈部皮下接种疫苗后诱生的针对 H5 亚型 AIV HI 抗体水平(nlog2)

Table 2 The titers of HI antibody against H5 subtype AIV developed in SPF chickens vaccinated subcutaneously via neck

组别 Group	剂量/PFU Dosage	免疫后时间/d Days post immunization						
		10	14	21	28	35	42	49
rFPV-AIH5A	2×10^4	1.33±1.23 ^a	1.50±0.99 ^a	0.75±1.00 ^a	0.68±0.55 ^a	0.12±0.50 ^a	0.19±0.22 ^a	0.12±0.12 ^a
rFPV-AIH5AIL6	2×10^4	2.31±1.35 ^a	2.60±1.18 ^a	2.53±1.72 ^a	1.60±1.04 ^a	1.00±0.86 ^a	1.00±0.64 ^a	1.08±0.76 ^a
rFPV-IL6	2×10^4	0	0	0	0	0	0	0
Wt-FPV	2×10^4	0	0	0	0	0	0	0
H5 AI killed vaccine	0.2 mL	1.60±1.59 ^a	4.40±1.88 ^b	5.00±1.77 ^b	6.94±1.98 ^b	7.31±2.62 ^b	6.85±1.87 ^b	6.50±2.68 ^b
PBS	0.2 mL	0	0	0	0	0	0	0

2.3 疫苗免疫鸡体后产生的 HI 抗体水平

在免疫后 7 d,除油苗组及 rFPV-IL6 和 rFPV-AIH5A 低剂量联合免疫组没有检测到抗体效价外,其余各组均已检测到抗体效价,免疫后 7、10 d rFPV-

AIH5AIL6 组检测到的抗体效价显著高于 rFPV-AIH5A($P<0.05$),免疫后 14、21 d 除 rFPV-IL6 和 rFPV-AIH5A 高剂量联合免疫组效价未明显上升,其他免疫组效价上升明显($P<0.05$)(表 4)。

表 3 SPF 鸡翅部皮下接种疫苗后诱生的针对 H5 亚型 AIV HI 抗体水平 (nlog2)

Table 3 The titers of HI antibody against H5 subtype AIV developed in SPF chickens vaccinated via wing-web puncture

组别 Group	剂量/PFU Dosage	免疫后时间/d Days post immunization						
		10	14	21	28	35	42	49
rFPV-AIH5A	2×10^4	1.57 ± 0.75^a	1.80 ± 1.04^a	1.75 ± 1.43^a	1.69 ± 1.32^a	1.44 ± 1.03^a	1.07 ± 0.98^a	0.80 ± 0.53^a
rFPV-AIH5AIL6	2×10^4	2.33 ± 1.06^a	2.65 ± 1.35^a	2.68 ± 1.35^a	2.31 ± 1.21^a	1.53 ± 1.21^a	1.62 ± 1.07^a	1.37 ± 0.95^a
rFPV-IL6	2×10^4	0	0	0	0	0	0	0
Wt-FPV	2×10^4	0	0	0	0	0	0	0
H5 AI killed vaccine	0.2 mL	1.60 ± 1.59^a	4.40 ± 1.88^b	5.00 ± 1.77^b	6.94 ± 1.98^b	7.31 ± 2.62^b	6.85 ± 1.87^b	6.50 ± 2.68^b
PBS	0.2 mL	0	0	0	0	0	0	0

表 4 SPF 鸡接种疫苗后诱生的针对 H5 亚型 AIV HI 抗体水平 (nlog2)

Table 4 The titers of HI antibody against H5 subtype AIV developed in SPF chickens immunized with rFPVs

组别 Group	剂量/PFU Dosage	免疫后时间/d Days post immunization			
		7	10	14	21
rFPV-AIH5A	2×10^4	0.25 ± 0.44^a	0.95 ± 1.19^{ab}	1.05 ± 0.94^{abc}	1.55 ± 0.94^a
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^3 + 2 \times 10^4$	0	0.55 ± 0.64^{ab}	0.75 ± 0.96^{ab}	1.10 ± 0.96^a
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^4 + 2 \times 10^4$	0.05 ± 0.22^a	0.05 ± 0.22^a	0.15 ± 0.36^a	0.15 ± 0.48^a
rFPV-AIH5AIL6	2×10^4	0.60 ± 0.75^b	2.40 ± 1.14^c	2.50 ± 0.94^c	2.65 ± 0.98^a
rFPV-IL6	2×10^4	0	0	0	0
PBS	0.2 mL	0	0	0	0
Wt-FPV	2×10^4	0	0	0	0
H5 AI killed vaccine	0.2 mL	0	1.95 ± 1.43^c	4.00 ± 1.29^d	5.80 ± 1.93^b

2.4 疫苗免疫鸡免疫效力

用剂量为 $10^{6.5}$ ELD₅₀ · 只⁻¹ 的 A/mallard/Huadong/S/2005 株进行滴鼻攻毒后, rFPV-AIH5AIL6 组和灭活疫苗组均达到了 95% 的保护, 高于 rFPV-AIH5A 组及 rFPV-IL6+rFPV-AIH5A 低剂量联合免疫组 ($P<0.05$)。而 rFPV-IL6+rFPV-AIH5A 高剂量联合免疫组在高剂量 A/mallard/Huadong/S/2005 株 AIV 的攻击下, 保护率为 0(表 5)。在排毒方面, 可看出在攻毒后 3 d, 排毒率最高; 喉气管排毒普遍高于泄殖腔; rFPV-AIH5AIL6 免疫组排毒率最低(表 6)。

3 讨论

从抗体消长检测结果看, 所有疫苗组的抗体呈现先上升、再下降的趋势, 重组鸡痘病毒免疫后 7 d 开始出现 HI 抗体, 早于油苗组, 免疫后 2~3 周 HI 抗体水平升至峰值, 4 周后 HI 抗体水平下降, 7 周仍保持一定的水平, 与尹荣兰等^[8] 研究重组鸡痘病毒在机体内的抗体消长结果相似。

本试验疫苗的接种采用了 2 种途径, 结果表明翅部皮下注射比颈部皮下注射产生较高水平的免疫抗体。产生此结果的原因可能是由于该疫苗抗原载

体是鸡痘病毒,载体鸡痘病毒在免疫鸡体内增殖的程度与免疫鸡的禽流感抗体滴度呈正相关性。翅部皮下注射是在翅膀内侧三角区翼膜内,此接种部位是双面皮肤,两侧皮肤间无肌肉组织。鸡痘病毒的敏感细胞是皮肤细胞,鸡痘病毒的传播方式是细胞间传播,鸡痘病毒在敏感细胞内增殖后,不释放出

来,通过细胞间桥直接传播给相邻敏感细胞。而颈部皮下注射接种,此部位皮下是结缔组织,不是鸡痘病毒的敏感细胞,疫苗载体不能很好增殖,疫苗抗原就可能得不到有效的表达。所以,翅部皮下注射是一种更好的接种方式^[9]。

表 5 SPF 鸡接种 rFPVs 后抵抗 H5 亚型 AIV 强毒攻击的免疫保护作用

Table 5 Protective efficacies against H5 subtype AIV challenge in SPF chickens immuniated with rFPVs

组别 Group	剂量/PFU Dosage	死亡数/总数 The death number/ Total	保护率/% Protection rate
rFPV-AIH5A	2×10^4	12/20	40 ^a
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^3 + 2 \times 10^4$	15/20	25 ^a
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^4 + 2 \times 10^4$	20/20	0
rFPV-AIH5AIL6	2×10^4	1/20	95 ^b
rFPV-IL6	2×10^4	20/20	0
PBS	0.2 mL	20/20	0
Wt-FPV	2×10^4	20/20	0
H5AI killed vaccine	0.2 mL	1/20	95 ^b

表 6 SPF 鸡接种 rFPVs 后抵抗 H5 亚型 AIV 强毒攻击的排毒情况

Table 6 Virus shedding following challenge of each vaccinated group

组别 Group	剂量/PFU Dosage	病毒分离 Virus isolation					
		攻毒后 3 d 3 days post challenge		攻毒后 5 d 5 days post challenge		攻毒后 7 d 7 days post challenge	
		喉气管	泄殖腔	喉气管	泄殖腔	喉气管	泄殖腔
rFPV-AIH5A	2×10^4	11/17	6/17	9/14	5/14	3/8	1/8
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^3 + 2 \times 10^4$	12/16	6/16	6/8	5/8	1/5	1/5
rFPV-IL6+rFPV-AIH5A	$2 \times 10^4 + 2 \times 10^4$	10/12	9/12	3/4	2/4	NS	NS
rFPV-AIH5AIL6	2×10^4	13/20	1/20	7/20	1/20	1/19	1/19
rFPV-IL6	2×10^4	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PBS	0.2 mL	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Wt-FPV	2×10^4	NS	NS	NS	NS	NS	NS
H5 AI killed vaccine	0.2 mL	12/20	5/20	10/19	5/19	2/19	2/19

NS. No survivors

细胞因子可以调节免疫反应和炎症反应,是一类重要的潜在的免疫调节因子。近年研究表明外源重组细胞因子可以在体内发挥免疫佐剂作用^[10]。

云水丽等^[7]研究表明共表达细胞因子 IL-2 和 H5 亚型 AIV HA 基因的重组鸡痘病毒免疫鸡后抗体水平明显高于单表达 H5 亚型 AIV HA 基因的重

组鸡痘病毒。Ramsay 等^[11]构建同时表达流感病毒 HA 和 IL-6 重组 FPV,接种小鼠,表达的 IL-6 在初免,特别是二免中明显增加黏膜的抗 HA 的 IgG 和 IgA 抗体反应,分别比对照组高 8 倍和 33 倍;在黏膜处,HA 特异 IgG 分泌细胞数目在初免和二免分别高 5 倍和 7 倍,流感病毒攻击后高 5 倍;黏膜处 IgA 分泌细胞数目分别高 4、14、6 倍,而且分泌 IgA 的细胞出现得早。因此,作者引入细胞因子 IL-6,构建了共表达细胞因子 IL-6 及 AIV HA-的重组鸡痘病毒 rFPV-AIH5AIL6。本试验研究表明 rFPV-AIH5AIL6 免疫组产生的抗体水平优于 rFPV-AIH5A 免疫组,共表达组免疫保护效果优于联合免疫组,这可能与共表达的重组鸡痘病毒能够在同一细胞内表达 ChIL-6 和 HA 蛋白,并一起被抗原递呈细胞提呈有关,共表达 IL6 的重组病毒能提高体液免疫反应。各免疫组在高剂量 $10^{6.5}$ ELD₅₀ · 只⁻¹ 的 A/mallard/Huadong/S/2005 株进行点眼滴鼻攻毒后,攻毒保护率有显著差异,rFPV-AIH5AIL6 免疫组与 H5 亚型灭活疫苗免疫组保护率都达 95%,显著高于其它组。虽然 rFPV-AIH5AIL6 免疫组抗体滴度低于 H5 亚型灭活疫苗免疫组,但是两者攻毒保护率一致。这可能是由于 rFPV-AIH5AIL6 免疫组产生较强的细胞免疫应答^[7]。在排毒方面,rFPV-AIH5AIL6 免疫组排毒率最低,说明该重组病毒不仅能提供较好的免疫保护率,也能降低感染鸡的排毒,减少对环境的污染。

综上所述,IL-6 在共表达 AIV HA 和 IL-6 的重组鸡痘病毒中很好的发挥了免疫佐剂作用,为 H5 亚型 AI 新型疫苗的研制奠定了基础。

参考文献:

[1] BRUN A, ALBINA E, BARRET T, et al. Antigen delivery systems for veterinary vaccine development;

- Viral-vector based delivery systems [J]. *Vaccine*, 2008, 26(51):6508-6528.
- [2] MA M, JIN N, WANG Z, et al. Construction and immunogenicity of recombinant fowlpox vaccines co-expressing HA of AIV H5N1 and chicken IL18 [J]. *Vaccine*, 2006, 24(20): 4304-4311.
- [3] HILTON L S, BEAN A G, LOWENTHAL J W. The emerging role of avian cytokines as immuno Therapeutics and vaccine adjuvants [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2002, 85 (3-4): 119-128.
- [4] KISHIMOTO T, AKIRA S, NARAZAKI M. Interleukin-6 family of cytokines and gp130 [J]. *Blood*, 1995, 86(4): 1243-1254.
- [5] DIEHL S, ANGUITA J, HOFFMEYER A. Inhibition of Th1 differentiation by IL-6 is mediated by SOCS1[J]. *Immunity*, 2000, 13 (6): 805-815.
- [6] 刘武杰, 仇旭升, 马怀良. 三种重组鸡痘病毒联合与单独免疫效力比较 [J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24 (6): 538-541.
- [7] 云水丽. 表达细胞因子和 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因重组鸡痘病毒的构建及细胞因子的免疫佐剂作用 [D]. 扬州大学, 2009.
- [8] 尹荣兰, 王浩然, 金宁一, 等. 重组鸡痘病毒 vFV282 疫苗株免疫抗体消长规律的检测 [J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(1):82-84.
- [9] 李惠兰, 李凤元, 吴洪涛, 等. 禽流感重组鸡痘病毒载体活疫苗接种的操作方法对免疫效果的影响 [J]. 现代畜牧兽医, 2010, 09:70-72.
- [10] 刘蕊娜, 邹年莉, 王红宁, 等. 鸡 IL-6 真核表达载体的构建及其对新城疫 LaSota 疫苗的免疫增强作用研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40 (1): 93-97.
- [11] RAMSAY A J, LEONG K H, BOYLE D, et al. Enhancement of mucosal IgA responses by interleukins 5 and 6 encoded in recombinant vaccine vectors [J]. *Reprod Fertil Dev*, 1994, 6: 389-392.

(编辑 白永平)