

# 猪繁殖与呼吸综合征病毒致病机理 及其抗病育种研究进展

陈婧瑶, 刘小娟, 王宇航, 李 笠, 胡晓湘, 李 宁\*

(中国农业大学生物学院, 北京 100193)

**摘 要:** 由猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)引起的猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)是一种严重危害世界养猪业的传染病。研究表明 PRRSV 通过与 HS、Sn、CD163 三种受体分子互作侵入宿主细胞, 通过抑制天然免疫、延迟中和抗体产生等多种途径抑制机体的免疫应答, 导致病毒的持续性感染。抗病育种能提高机体的天然免疫力, 现在猪的抗病育种主要采取直接选择、间接选择、转基因 3 种途径。作者对 PRRSV 致病机理及抗病育种的国内外研究现状进行了分析和综述, 并提出了新的研究设想。

**关键词:** 猪繁殖与呼吸综合征; 病毒入侵; 免疫抑制; 抗病育种

中图分类号: S813.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)11-1693-07

## Advances in Pathogenesis and Resistance Breeding of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus

CHEN Jing-yao, LIU Xiao-juan, WANG Yu-hang, LI Li, HU Xiao-xiang, LI Ning\*

(College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract:** Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), is a major infectious disease leading to the most economically loss in swine industry. Research shows that PRRSV virion invade host cells via three entry mediators (HS, Sn, CD163). PRRSV can inhibit host immune response by inhibiting innate immunity and delaying neutralizing antibody, resulting in persistent infection. Resistance breeding can improve natural immunity, mainly by means of direct selection, indirect selection and transgene. In this paper, the research status of PRRSV pathogenesis and resistance breeding has been reviewed, and the development of novel resistance approaches to PRRSV are also proposed.

**Key words:** porcine reproductive and respiratory syndrome; virus entry; immunosuppression; resistance breeding

猪繁殖与呼吸综合征(porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)是由猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)引起的以妊娠母猪繁殖障碍及各年龄阶段猪呼吸道症状为主要特征的传染病, 并引起严重的免疫抑制。该病最早于 1987 年在美国出现, 紧接着于 1989 年在欧洲暴发, 并从此逐渐向

世界其它地区扩散。PRRS 在世界范围内的频繁暴发造成了巨大的经济损失, 如 PRRSV 突变株在中国和越南引起的“猪无名高热病”导致两国的养猪业遭受重创。

很多学者在研究抗 PRRS 方面做了大量的工作, 取得了一定进展, 但现在生产上仍然没有一套有

收稿日期: 2013-06-05

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX008006-001; 转基因专项(2011ZX08009-006)

作者简介: 陈婧瑶(1991-), 女, 四川成都人, 博士生, 主要从事转基因动物抗病的研究, E-mail: jingyaochen@163.com

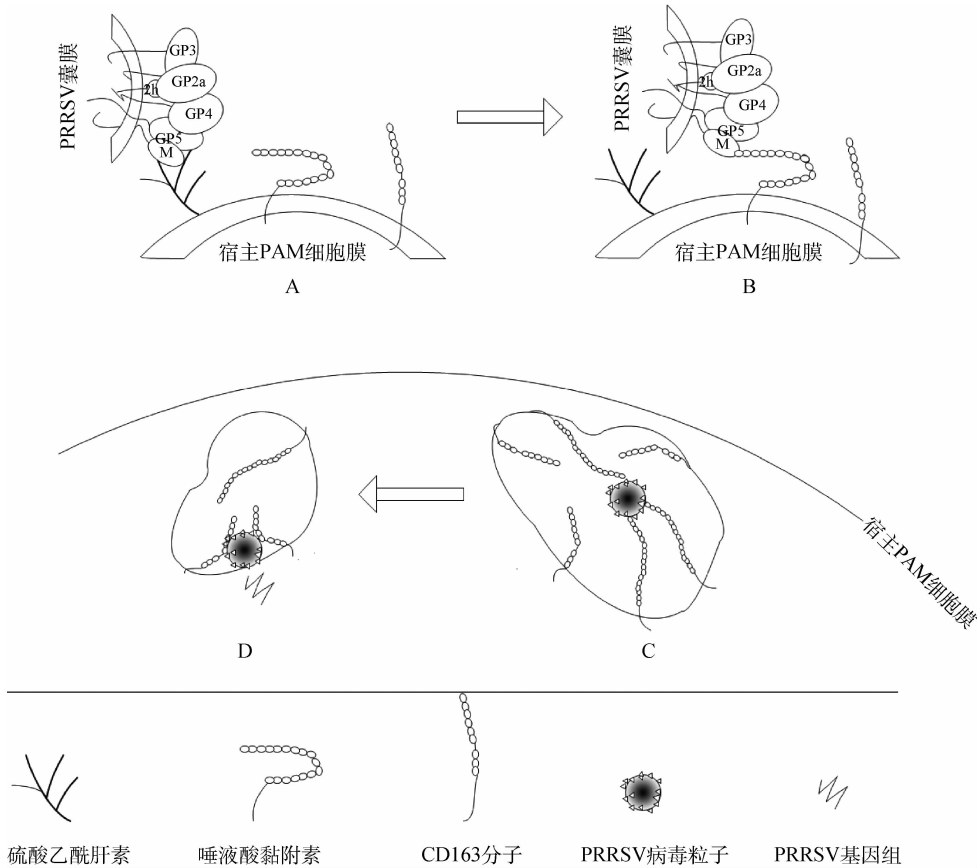
\* 通信作者: 李 宁, 教授, E-mail: ninglc@cau.edu.cn

效的保护猪免受 PRRSV 侵害的方法。提高管理水平、注射药物和疫苗等措施在预防和治疗疾病中起着一定作用,但它们都不能从根本上解决预防疾病这个难题。抗病育种能够提高机体的天然免疫力,可从分辨和选择抗性基因型、提高机体免疫应答能力、提高抗病力等多方面着手。现在对于抗性相关基因、信号通路和优良品种的研究还处于探索阶段。随着分子生物学的发展,新技术的产生也为抗病育种提供了新思路。明确 PRRSV 致病机理是做好抗病育种研究的先决条件。已有多项研究揭示了 PRRSV 侵入宿主细胞过程中与多种细胞受体互作的机制,以及 PRRSV 抑制宿主免疫的几种途径,这些都为抗病育种研究提供了参考,具有十分重要的意义。

### 1 PRRSV 侵入细胞过程

PRRSV 在体内主要感染猪肺泡巨噬细胞(porcine alveolar macrophages, PAM),也能感染外周血单核细胞和精子细胞。在体外,目前能感染非洲绿猴肾细胞系 MA104 及其衍生细胞系 MARC-145。研究发现,在 PAM 上存在 PRRSV 的 3 种受体,硫酸乙酰肝素 (heparin sulphate, HS)、唾液酸黏附素 (sialoadhesin, Sn) 和 CD163 (cluster of differentiation 163) 分子。

PRRSV 最先与 PAM 表面的 HS 接触,随后转换成与 Sn 发生更加稳定的互作。Sn 与病毒黏附后,病毒-受体复合体在网格蛋白的介导下发生内吞。病毒被内吞后很快进入到早期的包涵体中,病毒的基因组被释放到细胞质中。这个过程依赖于包涵体的酸化作用和 CD163<sup>[1]</sup>,组织蛋白酶 E 和一种还没有鉴定清楚的胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶也在这个过程中起作用(图 1)<sup>[2]</sup>。



A. PAM 表面的硫酸乙酰肝素受体吸附病毒粒子;B. 唾液酸黏附素吸附病毒粒子;C. 在唾液酸黏附素的介导下病毒-受体复合体被内吞入包涵体;D. CD163 分子介导 PRRSV 基因组释放入胞质

A. PRRSV virion attaches to heparan sulphate present on the macrophage surface; B. Subsequently, the virus binds to the sialoadhesin receptor; C. Upon attachment to sialoadhesin, the virus-receptor complex is internalized into the endosome; D. The viral genome is released into the cytoplasm via CD163

图 1 PRRSV 侵入猪肺泡巨噬细胞模式

Fig. 1 Model of PRRSV entry into the porcine alveolar macrophage

PAM 上的 3 种 PRRSV 受体及其在侵入细胞中所起的作用已基本研究清楚(表 1),但是这些研究都是在细胞水平进行的,在动物体上的作用是否与此一致还有待研究。因此,通过敲除或部分缺失

PRRSV 的受体基因来获得转基因动物,再研究这种转基因动物是否有抗 PRRSV 的能力是今后研究的一个方向。

表 1 PAM 上的 3 种 PRRSV 受体及其配体和作用

Table 1 Overview of the cell receptor involved in PRRSV infection of PAM

细胞受体 Cell receptor	受体的活性区域 Active domain of receptor	配体 Ligand	受体所起的作用 Effect of receptor
硫酸乙酰肝素 Heparan sulphate	未知 Unknown	M/GP5 复合体 M/GP5 complex	吸附 PRRSV 病毒粒子 Adsorbing PRRSV virion
猪唾液酸黏附素 Porcin sialoadhesin	N 端免疫球蛋白 V-set 结构域 N-terminal immunoglobulin-like V-set domain	M/GP5 复合体 M/GP5 complex	①吸附 PRRSV 病毒粒子 Adsorbing PRRSV virion ②介导 PRRSV 内吞 Internalizing PRRSV virion
CD163 分子 CD163	SRCR5 结构域 SRCR5 domain	GP2a, GP4	介导 PRRSV 基因组释放 Mediating PRRSV genome release

## 2 PRRSV 感染引起免疫抑制

PRRSV 可通过抑制天然免疫、延迟中和抗体产生、抗体依赖性增强、抑制树突状细胞功能等多种途径抑制机体的免疫应答,导致病毒的持续性感染。明确 PRRSV 感染引起免疫抑制的机制对于抗 PRRS 研究的开展非常必要。

### 2.1 PRRSV 对天然免疫的抑制

IFN 是机体抗病毒天然免疫的重要组成部分,然而 PRRSV 不能诱导 IFN 的分泌<sup>[3]</sup>,也不能有效活化和动员自然杀伤细胞(natural killer, NK)。L. K. Beura 等<sup>[4]</sup>研究发现 PRRSV 的 NSP1 $\alpha$ 、NSP1 $\beta$  和 NSP11 抑制了 IFN- $\beta$  启动子的激活,而 NSP1 $\beta$  不仅抑制了 IFN 调控因子 3(IRF3)的磷酸化作用,而且抑制了其向细胞核迁移。另外,有研究发现 PRRSV 的 NSP2 N 端一个半胱氨酸蛋白酶结构域通过干扰 I $\kappa$ B $\alpha$  的泛素过程来抑制 NF- $\kappa$ B 的激活,从而抑制 I 型干扰素的产生<sup>[5]</sup>。IFN 不能直接灭活病毒,而是作用于细胞的干扰素受体,经 JAK-STAT 信号通路,实现 IFN 刺激基因(ISG)转录的上调,抗病毒蛋白表达增多,从而实现对病毒的抑制作用。PRRSV 不仅抑制 IFN 的产生,而且抑制 IFN 介导的 JAK-STAT 信号通路。Z. Chen 等<sup>[6]</sup>研究发现,NSP1 在 JAK-STAT 信号通路中起重要

作用,它同 STAT1 的抑制子 PIAS1 互动,抑制 ISG 的转录,也抑制 STAT1 向细胞核移位。此外,在 MARC-145 和原代肺泡巨噬细胞中,NSP1 $\beta$  通过阻碍 STAT1/STAT2/IRF9 异源三聚体(ISGF3)向细胞核移位来抑制 IFN- $\alpha$  信号通路及被其调控的基因的表达<sup>[7]</sup>。

### 2.2 中和抗体产生延迟

关于中和抗体产生延迟的原因,研究人员进行了探索。F. A. Osorio 等<sup>[8]</sup>发现 PRRSV 主要结构蛋白 GP5 的胞外结构域包含 1 个免疫显性表位(表位 A 或“引诱”表位),能够在感染早期诱导产生强大的非中和抗体免疫反应,导致位于其下游的中和表位(表位 B)减弱或被屏蔽而不能产生相应的免疫应答。另外,有研究者发现,中和抗体表位内或周围的糖基化位点对中和抗体表位有屏蔽作用,因而减弱了 PRRSV 的免疫原性。在 2006 年, K. S. Faaberg 等<sup>[9]</sup>和 I. H. Ansari 等<sup>[10]</sup>分别利用缺乏不同糖基化位点的突变株和野生株,进行中和抗体诱导试验,结果表明突变株感染的猪血清中中和抗体滴度高于野生型。最近,研究者又发现 II 型 PRRSV 的 GP5 的第 51 位氨基酸和 GP3 的 131 位氨基酸 N 端糖基化对 PRRSV 延迟中和抗体的产生和逃避中和抗体有重要作用<sup>[11]</sup>。PRRSV 延迟中和抗体的产生是否经过了其它途径,还需要进一步研究。

### 2.3 PRRSV 抗体依赖性增强(ADE)

PRRSV 所诱导免疫的特征之一是 PRRSV 特异性母源抗体或疫苗抗体能使病毒更易于侵入靶细胞,从而导致感染增强,这种现象被称作病毒感染的抗体依赖性增强(antibody-dependent enhancement, ADE)。PRRSV 的抗体依赖性增强作用在猪体内外均存在<sup>[12]</sup>。PRRSV 的 ADE 发生机理有不同的报道,但目前被广泛认可的是病毒和抗体结合产生抗原抗体复合物,借助抗体 Fc 段与细胞表面 Fc 受体(主要是 Fc $\gamma$ R,即 IgG 的 Fc 受体)结合通过内吞作用进入宿主细胞(主要是肺泡巨噬细胞和其他组织的巨噬细胞)。Fc 和 FcR 的结合改变了细胞信号转导途径,导致抗病毒模式转变成使病毒容易进入的模式,病毒不仅容易进入细胞内,还能改变、适应胞内抗病毒机制<sup>[13]</sup>。

除了以上 3 个免疫特性,PRRSV 还可通过调节 T 细胞免疫、抑制树突状细胞功能、诱导调节性 T 细胞分化、影响细胞因子的释放等多种途径抑制机体天然和适应性免疫应答。这些机理方面的研究为 PRRSV 疫苗的开发奠定了基础。理想的 PRRSV 疫苗应该能够快速诱导机体产生大量的中和抗体。而在疫苗研究中应该对 GP5 蛋白的 A 表位和糖基化位点进行修饰,抑制其延迟中和抗体产生,还应该对疫苗进行 ADE 评估,以保证研制出的疫苗安全有效。另外,对免疫抑制的具体分子机制的研究还应该深入。

## 3 PRRS 抗病育种研究进展

抗病育种能提高机体的自然抗病力,PRRS 的抗病育种研究主要集中在 3 个方面,一是抗病性状的候选基因研究,二是 PRRSV 诱导的宿主基因表达谱和信号通路改变,三是品种影响猪的抗病性状。

### 3.1 抗病性状的候选基因研究

寻找控制抗病力的主效基因,是开展猪抗病力选育的重要手段。与猪抗病育种相关的候选基因主要为受体类基因、免疫相关基因等。Y. M. Sang 等<sup>[14]</sup>发现 Toll 样受体(TLR)在抗 PRRSV 感染的天然应答中起作用,在这之前 H. Shinkai 等<sup>[15]</sup>确定了猪 TLR 基因的多态性位点。这些多态性位点可能增加病原识别的多样性,也会影响抗病毒能力。H. Uenishi 等<sup>[16]</sup>推测了多态性位点与抗病育种之间的关系。N. Boddicker 等<sup>[17]</sup>对与猪应答 PRRSV 有关的 QTL 进行了研究,发现 4 号染色体上的一

个 QTL 与研究族群的遗传方差有关。

免疫相关基因编码参与动物机体防御的蛋白,其突变会引起其基因产物结构功能的变化,其表达量的变化则导致产物含量在体内的变化。有研究者<sup>[18]</sup>发现干扰素  $\alpha$  的大多数亚型都表现出在猪体和 MARC-145 细胞中抗 PRRSV 的能力,而干扰素  $\delta$ 、 $\omega$  的亚型以及干扰素  $\beta$  和  $\alpha_0$  的抗病毒活力会受感染细胞类型的影响,另外,包括干扰素  $\alpha_7/11$ 、干扰素  $\delta_2/7$  和干扰素  $\alpha_4$  在内的几种干扰素没有或只有轻微的抗病毒活力。猪的主要组织相容性复合体被称作 SLA。SLA 是与抗病性和免疫应答密切相关的一组基因群,包括 I 类、II 类、III 类基因。对于许多物种,SLA 抗原的表达会在病毒性疾病发生过程中被调整。SLA I、II 型等位基因参与调控重要的抗病毒免疫应答。但是这些候选基因对猪其它性状的控制效果还不是很清楚,这是有待研究的问题。

### 3.2 PRRSV 诱导的宿主基因表达谱和信号通路改变

PRRSV 的感染影响了许多免疫基因的表达。D. B. Petry 等<sup>[19]</sup>用定量 PCR 分析发现,试验猪感染 PRRSV 14 h 后,其肺脏和支气管淋巴结中有 11 种天然和辅助性 T-1 免疫标记的转录上调。A. T. Ait 等<sup>[20]</sup>分析猪肺泡巨噬细胞中 *USP18* 基因的表达发现,*USP18* 转录本的堆积与 PAM 对 PRRSV 的敏感性有关。同时,研究者还发现 *USP18* 转录本的上调延迟到感染后 8 h,与传统的 poly I:C 引起的 I 型干扰素应答中转录本的堆积相比有数量级上的减少。S. Suradhat 等<sup>[21]</sup>发现猪感染 PRRSV 后外周血单核细胞、白细胞等免疫细胞的白介素-10(IL-10)呈上调表达。

M. Wysocki 等<sup>[22]</sup>通过比较 PRRSV 的高带毒(HR)和低带毒(LR)猪体内基因表达和信号通路的差异,发现包括急性反应信号通路等在内的 16 条信号通路在 HR、LR 猪体内有差异,还有一些与免疫应答有关的基因被上调或下调。2010 年, J. K. Lunney 等<sup>[23]</sup>已经发现包括 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  在内的促炎因子在试验性 PRRSV 感染的急性阶段表达量低。SOCSI 基因在 PRRSV 感染的初期被上调,进而对促炎因子有抑制作用,解释了 J. K. Lunney 的发现。在 PRRSV 感染后期,在 TY-ROBP 基因下调的影响下,SOCSI 基因对 STAT 信号通路的抑制进一步加重,此 2 个基因还抑制了 NF- $\kappa$ B 和 EBK 信号通路。M. Wysocki 等发现在

PRRSV 感染过程中, *SOCS1*、*SOD2*、*RBP4*、*HLA-B*、*HLA-G*、*PPP2R1A* 和 *TAP1* 基因均被上调, *IL18*、*TF*、*C4BPA*、*C1QA*、*C1QB* 和 *TYROBP* 基因被下调。

### 3.3 猪的品种与 PRRS 抗病育种

品种差异在决定猪对 PRRS 的抵抗力和易感性上起着重要作用。杜洛克猪在感染 PRRSV 后比梅山猪有更高的血清 ELISA 阳性率、更低的日增重和更严重的肺部损伤<sup>[24]</sup>。G. Reiner 等<sup>[25]</sup> 比较一定数量的 Wiesenauer Miniature 猪和 Pietrain 猪对 PRRSV 的易感性, 攻弱毒株后发现, Wiesenauer Miniature 猪比 Pietrain 猪的病毒血症持续时间短、病毒水平低。A. T. Ait 等<sup>[26]</sup> 发现长白猪肺泡巨噬细胞中病毒的复制水平显著低于其它品系, 作者推测长白品种固有的特性(比如 PRRSV 受体 Sn 的丰度和位置)都与猪体对 PRRSV 免疫应答的延迟和轻微有关。另外, 许多研究都发现, 有较强繁殖力的品种比有较高瘦肉率的品种对病毒的抵抗力更高。可以看出, 猪生长性状和抗病性状之间存在着一定程度的负相关, 此外, 选择对某种病原的抗性可能导致对其他病原的易感性。因此, 在研究工作中, 研究者应该从多个角度深入分析、权衡各方面的利弊, 选择出一条最有价值的抗病育种之路。

## 4 PRRS 抗病育种新技术研究进展

抗病育种的途径很多, 传统方法可分为两大类, 一类是直接选择, 另一类是间接选择。直接选择可实行表型选择和基因型选择。间接选择的一种方法是标记辅助选择, 通过与抗病性有关的已经定位的遗传标记或控制抗病性的基因来选择。但是, 抗病性状可能是多基因性状, 并与环境互作效应大。因此, 这些抗病育种方法还需要进一步完善, 效果也要进一步观察。

转基因技术是指将已知的外源基因移入动物细胞并整合到基因组中, 从而使其得以表达的技术, 该技术已被用于抗病育种研究。它的主要优点是能够实现基因的种间转移, 因此不同来源的基因具有增强抗某种或某些疾病的能力, 用于动物的抗病育种可提高育种的目的性, 加快育种进程。但是由于其难度大、成本高, 如今在猪抗病育种中的研究还处于探索阶段。S. Liu 等<sup>[27]</sup> 获得了转重组人溶菌酶的转基因鼠, 从乳汁中分离出来的人溶菌酶具有与天然溶菌酶相似的生物学活性。基于小鼠的研究, 笔

者所在课题组已经获得了乳汁中高水平表达重组人溶菌酶的转基因猪, 该转基因猪的抗病力还在研究中。

除了插入抗性相关基因外, 随着 RNAi 技术的发展和 PRRS 了解的深入, 研究者正在试图将具有抗 PRRSV 功能的 microRNA 或 shRNA 整合到基因组上, 以获得具有抗 PRRS 能力的转基因猪。G. M. Li 等<sup>[28]</sup> 利用表达靶向 ORF1b 的 shRNA 的重组腺病毒有效抑制 PRRSV 在猪体内外的复制。X. K. Guo 等<sup>[29]</sup> 研究发现在细胞水平和猪体内 microRNA181 都能够抑制 PRRSV 复制, 对猪体有一定的保护力。这些探索性的工作为 RNA 干扰和转基因技术的结合奠定了基础。

最近, R. S. Prather 等<sup>[30]</sup> 获得了 Sn 的双敲猪, 攻毒后发现这种猪不具有抗 PRRSV 的能力, 虽然结果与预期不一致, 但这种敲除 PRRSV 复制周期中所需基因的方法仍然具有继续研究的价值。

## 5 PRRS 抗病育种的困难与问题

PRRS 抗病育种处于探索阶段, 存在许多问题。从动物体这方面来讲, 抗病性的遗传机制非常复杂且受环境影响较大。抗病性与生产力性状之间存在负相关, 不同疾病间也存在颞颥性。猪的世代间隔较长, 必须经长时间选择才可能有效<sup>[31]</sup>。从病原微生物这方面来讲, PRRSV 的遗传特性及与宿主动物的相互关系十分复杂。PRRSV 分为欧洲型和北美型, 且具有变异能力。

## 6 展望与总结

目前国内外对 PRRS 的控制主要是从疫苗、药物等兽医角度进行的, 从育种角度进行的总体上还处于试验阶段。不管是疫苗、药物还是抗病育种, 都还没有能在生产上非常有效、安全地保护猪免受 PRRSV 影响的方法。笔者认为, 这些问题归根结底是目前对 PRRSV 整个致病过程分子机制的认识还不足。因此, 进一步加强病毒致病机理和动物体抗病机理的研究具有非常重要的理论和实践意义。对于猪的抗病育种研究, 笔者认为, 应针对目前候选基因数目偏少、研究程度不深的现状, 借助中国地方猪种抗病、抗逆基因资源丰富的优势, 大规模开展猪抗病育种相关基因的挖掘。随着分子生物学的发展, RNA 干扰、TALEN、CRISPR-Cas9 等新技术相继出现, 为抗病育种提供了更有效、更方便的新途

径。在表达 siRNA 的慢病毒载体的介导下, G. Tiscornia 等获得了靶基因表达下调的转基因小鼠<sup>[32]</sup>, 为该技术在大动物上的可行性提供了希望。在深入研究动物体抗 PRRS 机理和 PRRSV 致病机理的基础上, 从抗病候选基因和抗病育种新技术等多角度优化抗病育种策略, 研究者必将在抗病育种进程中取得突破性进展。

### 参考文献:

- [1] VAN G H, VAN B W, DELPUTTE P L, et al. The porcine reproductive and respiratory syndrome virus requires trafficking through CD163-positive early endosomes, but not late endosomes, for productive infection[J]. *Arch Virol*, 2009, 154(12): 1939-1943.
- [2] MISINZO G M, DELPUTTE P L, NAUWYNCK H J, et al. Involvement of proteases in porcine reproductive and respiratory syndrome virus uncoating upon internalization in primary macrophages [J]. *Vet Res*, 2008, 39(6):55.
- [3] CALZADA N G, SCHNITZLEIN W, HUSMANN R, et al. Characterization of the cytokine and maturation responses of pure populations of porcine plasmacytoid dendritic cells to porcine viruses and toll-like receptor agonists[J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2010,135(1-2): 20-33.
- [4] BEURA L K, SARKAR S N, KWON B, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus nonstructural protein 1 beta modulates host innate immune response by antagonizing IRF3 activation[J]. *J Virol*,2010,84(3): 1574-1584.
- [5] SUN Z, CHEN Z, LAWSON S R, et al. The cysteine protease domain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus nonstructural protein 2 possesses deubiquitinating and interferon antagonism functions[J]. *J Virol*,2010,84(15): 7832-7846.
- [6] CHEN Z, LAWSON S, SUN Z, et al. Identification of two auto-cleavage products of nonstructural protein 1 (nsp1) in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infected cells; nsp1 function as interferon antagonist[J]. *Virology*,2010,398(1): 87-97.
- [7] 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]. *J Virol*, 2010, 84 (21): 11045-11055.
- [8] OSORIO F A, GALEOTA J A, NELSON E, et al. Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity [J]. *Virology*, 2002,302(1): 9-20.
- [9] FAABERG K S, HOCKER J D, ERDMAN M M, et al. Neutralizing antibody responses of pigs infected with natural GP5 N-glycan mutants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *Viral Immunol*, 2006,19(2): 294-304.
- [10] ANSARI I H, KWON B, OSORIO F A, et al. Influence of N-linked glycosylation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 on virus infectivity, antigenicity, and ability to induce neutralizing antibodies[J]. *J Virol*, 2006, 80(8): 3994-4004.
- [11] VU H L X, KWON B, YOON K J, et al. Immune evasion of porcine reproductive and respiratory syndrome virus through glycan shielding involves both glycoprotein 5 as well as glycoprotein 3[J]. *J Virol*, 2011,85(11): 5555-5564.
- [12] 冉红志,赵宝,朱永周,等.猪繁殖与呼吸综合征病原学及免疫学特性研究进展[J]. *动物医学进展*, 2011(6): 148-151.
- [13] UBOL S, HALSTEAD S B. How innate immune mechanisms contribute to antibody-enhanced viral infections[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2010, 17(12): 1829-1835.
- [14] SANG Y M, ROSS C R, ROWLAND R R R, et al. Toll-like receptor 3 activation decreases porcine arterivirus infection[J]. *Viral Immunol*, 2008, 21(3): 303-313.
- [15] SHINKAI H, TANAKA M, MOROZUMI T, et al. Biased distribution of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in porcine Toll-like receptor 1 (TLR1), TLR2, TLR4, TLR5, and TLR6 genes [J]. *Immunogenetics*, 2006,58(4): 324-330.
- [16] UENISHI H, SHINKAI H. Porcine Toll-like receptors: The front line of pathogen monitoring and possible implications for disease resistance [J]. *Dev Comp Immunol*, 2009,33(3): 353-361.
- [17] BODDICKER N, WAIDE E H, ROWLAND R R R, et al. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge[J]. *J Anim Sci*, 2012, 90(6): 1733-1746.
- [18] SANG Y, ROWLAND R R R, HESSE R A, et al. Differential expression and activity of the porcine type

- I interferon family[J]. *Physiol Genomics*, 2010, 42(2): 248-258.
- [19] PETRY D B, LUNNEY J, BOYD P, et al. Differential immunity in pigs with high and low responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection[J]. *J Anim Sci*, 2007, 85(9): 2075-2092.
- [20] AIT A T, WILSON A D, WESTCOTT D G, et al. Dynamic differential regulation of innate immune transcripts during the infection of alveolar macrophages by the porcine reproductive and respiratory syndrome virus [C]//Animal Genomics for Animal Health, 2008:239-245.
- [21] SURADHAT S, THANAWONGNUWECH R, POOVORAWAN Y, et al. Upregulation of IL-10 gene expression in porcine peripheral blood mononuclear cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *J Gen Virol*, 2003, 84 (Pt 2): 453-459.
- [22] WYSOCKI M, CHEN H, STEIBEL J P, et al. Identifying putative candidate genes and pathways involved in immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection [J]. *Anim Genet*, 2012, 43(3): 328-332.
- [23] LUNNEY J K, FRITZ E R, REECY J M, et al. Interleukin-8, interleukin-1beta, and interferon-gamma levels are linked to PRRS virus clearance [J]. *Viral Immunol*, 2010, 23(2): 127-134.
- [24] LUNNEY J K, CHEN H. Genetic control of host resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection [J]. *Virus Res*, 2010, 154(1-2): 161-169.
- [25] REINER G, WILLEMS H, PESCH S, et al. Variation in resistance to the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Pietrain and Miniature pigs[J]. *J Anim Breed Genet*, 2010, 127(2): 100-106.
- [26] AIT A 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 Immunol*, 2007, 20(1): 105-118.
- [27] LIU S, LI X Q, LU D, et al. High-level expression of bioactive recombinant human lysozyme in the milk of transgenic mice using a modified human lactoferrin BAC[J]. *Transgenic Res*, 2012, 21(2): 407-414.
- [28] LI G M, JIANG P, LI Y F, et al. Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication by adenovirus-mediated RNA interference both in porcine alveolar macrophages and swine[J]. *Antiviral Res*, 2009, 82(3): 157-165.
- [29] GUO X K, ZHANG Q, GAO Li, et al. Increasing expression of MicroRNA 181 inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication and has implications for controlling virus infection[J]. *J Virol*, 2013, 87(2): 1159-1171.
- [30] PRATHER R S, ROWLAND R R R, EWEN C, et al. An intact sialoadhesin (Sn/SIGLEC1/CD169) is not required for attachment/internalization of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *J Virol*, 2013, 87(17): 9538-9546.
- [31] 苏光华. 猪抗病育种研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2008, 35(6): 66-68.
- [32] TISCORNIA G, SINGER O, IKAWA M, et al. A general method for gene knockdown in mice by using lentiviral vectors expressing small interfering RNA [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(4): 1844-1848.

(编辑 白永平)