

猪繁殖与呼吸综合征病毒类 NADC30 毒株 FJZ03 的致病性分析

刘建奎*, 范佳霖, 魏春华, 李艳, 刘佳悦, 马露露, 虞慧芸, 戴爱玲, 杨小燕*

(龙岩学院生命科学学院, 福建省家畜传染病防治与生物技术重点实验室

福建省生猪疫病防控工程技术研究中心, 龙岩 364000)

摘要: 为了解猪繁殖与呼吸综合征病毒新流行毒株——类 NADC30 毒株的生物学特性和致病特征, 将类 NADC30 PRRSV FJZ03 毒株和 HP-PRRSV FJLYDX 毒株分别接种 30 日龄 PRRSV 和 PCV2 阴性仔猪, 观察、记录 and 对比各试验组感染猪的临床症状、体温变化、体外排毒情况、病毒血症及组织病变等情况。试验结果显示, FJZ03 株能在猪体内快速复制, 引起仔猪较高滴度的病毒血症, 体温升高和体外排毒时间均早于高致病性毒株 FJLYDX, 并且引起严重的间质性肺炎和脾萎缩。细胞因子检测结果表明 FJZ03 组仔猪细胞因子的浓度都有不同程度的升高, 与 FJLYDX 组相比最明显的是产生较高水平的 TNF- α 和 IL-10。综上表明 FJZ03 对仔猪具有较强的致病性。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征病毒; NADC30-like PRRSV; 致病性

中图分类号: S852.659.6

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)06-1241-08

Pathogenicity of a NADC30-like Strain FJZ03 of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Emerged in China

LIU Jian-kui*, FAN Jia-lin, WEI Chun-hua, LI Yan, LIU Jia-yue,
MA Lu-lu, YU Hui-yun, DAI Ai-ling, YANG Xiao-yan*

(Fujian Provincial Key Laboratory for the Prevention and Control of Animal Infectious Diseases and Biotechnology, Fujian Engineering Research Center for Swine Disease Control and Prevention, College of Life Sciences, Longyan University, Longyan 364000, China)

Abstract: The aim of this study was to explore the biological characteristics and pathogenic of a NADC30-like PRRSV. Thirty days old piglets confirmed to be free of PRRSV and PCV2 were inoculated with a NADC30-like PRRSV FJZ03 strain and a HP-PRRSV FJLYDX strain, respectively. The clinical symptoms, rectal temperature, virus excretion, virus loads in the sera, and tissues lesions were monitored and recorded. We found that FJZ03 strain could be rapidly replicated and developed higher titer of viremia in piglets. Moreover, the time of rectal temperatures rose and virus excretion in FJZ03 infected piglets were earlier than that of FJLYDX infected. Furthermore, piglets infected with FJZ03 displayed severe interstitial pneumonia and spleen atrophy. Cytokine test results showed that the cytokines concentrations of sera of FJZ03 infected piglets increased at different degrees. The IL-10 and TNF- α concentration in FJZ03 group was obvious higher than that of the FJLYDX group. Therefore, our results indicated that FJZ03 is pathogenic for piglets.

Key words: porcine reproductive and respiratory syndrome virus; NADC30-like PRRSV; pathogenicity

收稿日期: 2017-09-19

基金项目: 福建省科技重大专项(2014NZ0002-3); 福建省自然科学基金(2016J01168); 福建省大学生创新创业计划训练项目(201711312043)

作者简介: 刘建奎(1979-), 男, 博士, 山东聊城人, 主要从事分子病原学研究

* 通信作者: 刘建奎, E-mail: liujiankui99@126.com; 杨小燕, E-mail: lyxy1988@126.com

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(PRRS virus, PRRSV)引起的一种全球性的猪的重要传染性疾病,以引起母猪繁殖障碍、生长猪特别是仔猪的呼吸道疾病和持续性感染等为主要特征,给世界养猪业造成巨大的经济损失^[1-2]。PRRS于1996年在我国大陆首次暴发,并迅速蔓延,成为我国规模化养猪场主要疫病之一。2006年,在我国暴发的高致病性 PRRSV (highly pathogenic PRRS virus, HP-PRRSV),给我国的养猪业造成了严重的经济损失,2013年国内出现了新流行毒株,该毒株与2008年美国分离到的 NADC30 毒株亲缘关系较近,称之为类 NADC30 PRRSV (NADC30-like PRRSV),随后迅速蔓延至全国多个省市,给猪场防控 PRRS 带来了严峻挑战^[3-10]。

类 NADC30 PRRSV 于2013年开始在福建省流行,给当地的养猪业造成了重大的经济损失^[11-13]。临床调查发现该类毒株主要引起母猪流产和仔猪呼吸道疾病,传播速度非常快,猪场一旦感染,迅速波及全场,即使在疫苗免疫的猪场也不能幸免。基因组序列分析表明,该类毒株与经典毒株 VR2332 和 CH-1a 相比其在 *Nsp2* 基因存在 131 aa 的不连续缺失^[6-7,11-13]。流行病学调查结果表明2014年之后类 NADC30 PRRSV 成为福建省猪场的优势毒株,因此有必要深入研究类 NADC30 PRRSV 的生物学特性和致病性,为今后对该类毒株的防控提供科学依据。本研究选取可以用 MARC-145 细胞分离且与 NADC30 相似性最高(97.1%)的2013年分离株 FJZ03 进行致病性研究,通过观察记录感染仔猪的临床症状和体温变化,检测其排毒情况、病毒血症及组织病理变化等情况,研究该毒株对仔猪的致病性。

1 材料与方法

1.1 试剂

PRRSV 抗体检测试剂盒为 IDEXX Herd Check[®] PRRS ELISA X3 试剂盒;RNA 提取试剂盒、DNA 胶回收试剂盒购自天根生化科技有限公司;PrimeScript[™] One Step RT-PCR Kit Ver. 2 购自大连宝生物公司;IFN- β 、TNF- α 、IL-8、IL-10、IL-1 β 及 IL-12p70 ELISA 定量试剂盒购自 R&D 公司(R&D Systems, MN, USA)。

1.2 细胞、毒株

MARC-145 细胞、类 NADC30 毒株 FJZ03 和高致病性毒株 FJLYDX 由龙岩学院生命科学学院重点实验室分离并保存。FJZ03 毒株(GenBank 收录号为 KP860909)于2013年分离自福建省某规模化猪场,该猪场妊娠母猪流产较严重(30%左右),仔猪呼吸道症状比较明显,零星死亡。

1.3 动物试验

将15头30日龄 PRRSV 和 PCV2 抗原和抗体均为阴性的健康仔猪,随机均分为3组,分别为 FJZ03 组、FJLYDX 组和对照组。攻毒组(FJZ03 组和 FJLYDX 组)按每头猪 2 mL(2×10^4 TCID₅₀)的剂量进行滴鼻接种。对照组每头猪接种 2 mL 不含血清的 DMEM 细胞培养液。

1.4 临床症状

接种后每天观察每头猪的临床症状,测量体温(上午和下午各测量一次),并在攻毒前(0 d)和攻毒后 14 d 对猪进行称重。临床症状评分标准参考冷雪^[14]的方法,从动物行为(精神状态、食欲、神经症状)、呼吸症状和皮肤颜色等方面进行评分。

1.5 血清和鼻拭子、咽喉分泌物样本采集

分别在攻毒后 0、1、2、3、4、7、11 和 14 d 经前腔静脉采血,分离血清,-80 °C 冰箱保存。在采血的同时用棉签采集鼻拭子和咽喉分泌物进行 PRRSV 核酸的 RT-PCR 检测。按照天根生化科技有限公司 RNA 提取试剂盒说明书进行样品的 RNA 提取,参照 TaKaRa 试剂盒说明书采用一步法进行 RT-PCR。参考 Zhao 等^[15]用于扩增 PRRSV ORF7 基因的引物,P1: 5'-TCCACTACGGTCAACGGCACA-3'; P2: 5'-TTTTTTAATTDCGCCGCATGG-3'。

1.6 肺组织病理学观察

攻毒后 14 d 剖杀所有猪,无菌采集肺并用 10% 中性福尔马林固定,按常规方法制作病理切片,观察组织病理学变化。

1.7 病毒滴度和抗体检测

参考 Guo 等^[16]的方法测定 PRRSV 滴度。参照 IDEXX 猪繁殖与呼吸综合征抗体检测试剂盒说明书检测血清中 PRRSV 抗体。

1.8 细胞因子检测

采集攻毒后 0、4、7、11 和 14 d 的血清和攻毒后 14 d 的支气管肺泡灌洗液用于测定 IL-1 β 、IL-8、IL-10、IL-12p70、TNF- α 和 IFN- γ 的浓度,具体操作根据检测试剂盒说明书进行。

1.9 数据分析

本研究所有数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”的形式进行统计。多组数据之间使用单因素方差(one-way ANOVA)分析比较组别之间的差异性。两组数据之间使用独立样本 t 检验进行差异性分析。若 $P < 0.05$, 则说明数据间有显著性差异, $P < 0.01$ 则说明数据间有极其显著性差异。

2 结果

2.1 临床症状

攻毒后 1 d(1 DPC), FJZ03 组仔猪体温升高到 40 °C 以上, 3 DPC 时达到最高(平均体温 40.5 °C), 仔猪表现出咳嗽、打喷嚏和厌食等症状, 至试验结束时没有仔猪死亡(图 1)。高致病性毒株 FJLYDX 组仔猪在 2 DPC 体温上升到 40 °C 以上, 7 DPC 时达到最高为 41 °C, 40 °C 以上的体温一直持续到试验结束, 猪表现出精神沉郁、咳嗽、呼吸困难和厌食等典型的临床症状, 10 DPC 时 1 头仔猪死亡(图 1)。整个试验过程中, 对照组的仔猪体温正常(均在 39.4~39.8 °C 范围内波动), 无异常呼吸症状, 两攻毒组仔猪临床症状分值明显高于对照组(图 2)。FJZ03 组、FJLYDX 组与对照组仔猪体重每天平均增加 0.252、0.142 和 0.322 kg, FJZ03 组和 FJLYDX 组与对照组相比仔猪增重差异显著($P < 0.05$)。攻毒 14 d 后剖杀所有猪, FJZ03 组的仔猪肺呈间质性肺炎的症状, 多灶性弥散, 肺部存在散在的出血点, 具有不规则边界的褐色至红色斑点区域, FJLYDX 组的仔猪肺呈典型的间质性肺炎的症状, 多灶性弥散, 具有不规则边界的褐色区域, 对照组无异常变化(图 3)。同时 FJZ03 组仔猪的脾与对照组相比严重萎缩(图 3)。

2.2 病毒血症

提取血清中的总 RNA, 反转录为 cDNA, 以此为模板进行 PCR 检测, 结果显示在 1 DPC 时 FJZ03 组血清中病毒核酸检出率为 4/5, 2 DPC 时检出率为 5/5, 并且一直持续到试验结束。而 FJLYDX 组在 3 DPC 时才检测到血清中病毒核酸, 检出率为 3/5, 在 4~14 DPC 时检出率为 5/5(表 1)。整个试验过程中对照组仔猪均没有检测到病毒核酸。

将经双抗处理的阳性血清接种至长成单层的 MARC-145 细胞上, 测定血清中的病毒载量。两组攻毒组仔猪的血清均可分离到病毒, FJZ03 组在 4 DPC 时血清中呈现较高的病毒滴度, 7 DPC 达到

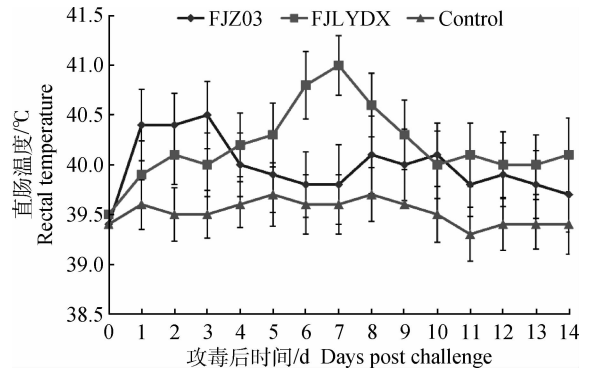
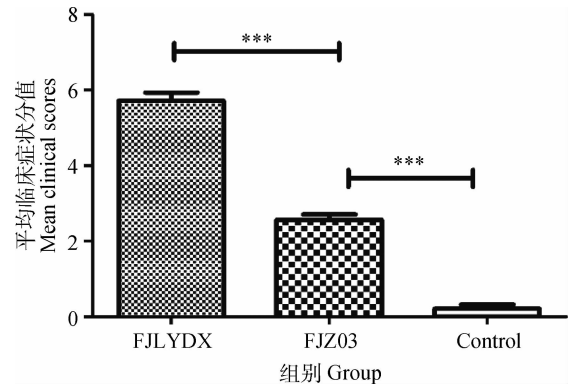


图 1 攻毒后猪体温变化

Fig. 1 Comparison of rectal temperatures among FJLYDX, FJZ03 and control groups



***. $P < 0.01$

图 2 FJLYDX、FJZ03 和对照组平均临床症状分值

Fig. 2 Mean clinical scores of piglets in different group after infection

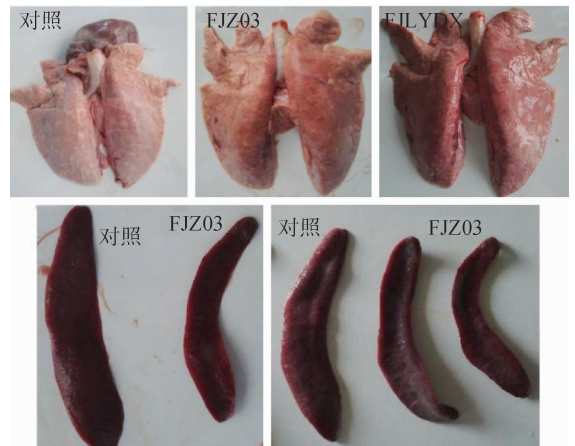


图 3 FJZ03 感染猪肺、脾解剖病变

Fig. 3 Gross lesions of lung and spleen of infected piglets

最高($10^{5.0}$ TCID₅₀ · mL⁻¹), FJLYDX 组在 7 DPC 达到最高($10^{6.1}$ TCID₅₀ · mL⁻¹), 较高的病毒载量一直维持到试验结束。FJZ03 攻毒组和 FJLYDX 攻毒组病毒载量在 7、11 和 14 DPC 差异显著($P <$

0.05)(图4)。试验结果表明,FJZ03 毒株在仔猪体内能快速复制。

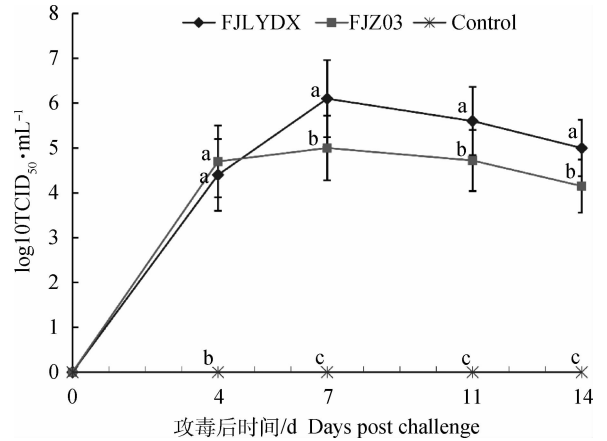
2.3 攻毒试验猪的排毒情况

采用 RT-PCR 方法,检测攻毒仔猪鼻、咽喉分泌物中的 PRRSV 核酸,研究 PRRSV 的排毒情况。结果表明 FJZ03 在 3 DPC 时在猪的鼻、咽喉分泌物中均可检测到 PRRSV 核酸,而 FJLYDX 组在 7 DPC 时可以检测到 PRRSV 核酸(表 1),表明 FJZ03 感染猪体后能较快地向环境中排毒,从而感染其他猪,这可以解释为什么猪场一旦感染此类毒株就能迅速波及全场。

2.4 抗体检测

用 IDEXX 抗体检测试剂盒检测猪血清中特异性的 PRRSV N 蛋白抗体,结果如图 5。FJZ03 组在 7 DPC 时有 3 头猪转阳,11 DPC 全部转阳,而 FJLYDX 组在 7 DPC 时 5 头猪全部转阳(S/P>0.4),抗体水平显著高于 FJZ03 攻毒组(图 5)。在整个试验过

程对照组血清中的 PRRSV N 蛋白抗体均为阴性。



a、b、c 不同字母间表示差异显著 $P < 0.05$
Different letter superscripts denote significant differences at $P < 0.05$

图 4 病毒载量测定

Fig. 4 Virus titer from positive serum samples at each collection time point

表 1 鼻、咽喉分泌物和血清 PRRSV ORF7 检测结果

Table 1 Detection of ORF7 gene of PRRSV by RT-PCR

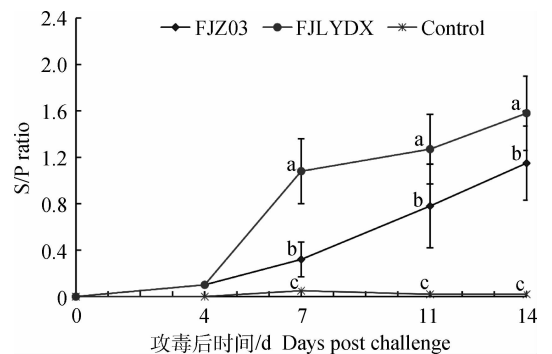
DPC	FJZ03 攻毒组		FJLYDX 攻毒组		对照组	
	FJZ03 inoculated group		FJLYDX inoculated group		Control	
	分泌物 Secretion	血清 Serum	分泌物 Secretion	血清 Serum	分泌物 Secretion	血清 Serum
0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1	0/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
3	5/5	5/5	0/5	3/5	0/5	0/5
4	5/5	5/5	0/5	5/5	0/5	0/5
7	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5
11	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5
14	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

2.5 肺病理组织学检查

FJZ03 组肺呈间质性肺炎病变,肺泡内皮细胞增生、脱落,肺泡壁增宽,有大量炎性细胞浸润或纤维性渗出,肺泡腔被占据而缩小。肺泡毛细血管扩张,充满大量的红细胞;各级气管黏膜上皮细胞肿胀、增生,形成波浪形皱褶,且管腔内充斥着大量的淋巴细胞以及脱落的黏膜上皮细胞和细胞坏死的崩解物(图 6b)。FJLYDX 组肺病理组织病理变化比 FJZ03 组严重,各级支气管周围有大量炎性细胞浸润(图 6c)。

2.6 主要细胞因子的测定

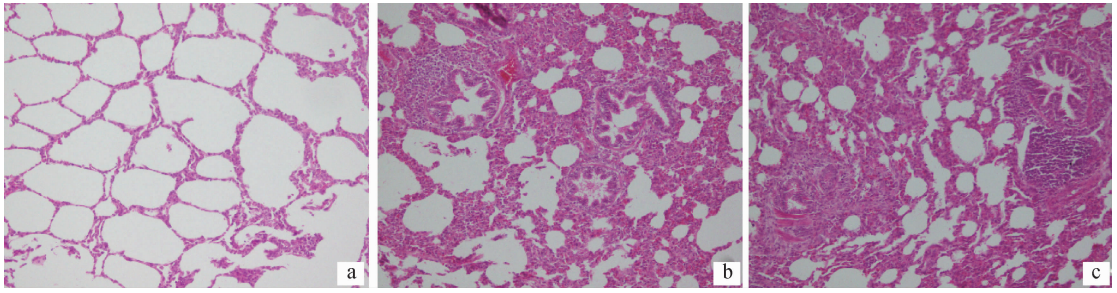
2.6.1 血清中细胞因子的变化 仔猪接种 FJZ03 和 FJLYDX 后,血清中的 TNF- α 浓度逐渐升高,在 11 DPC 达到最高,FJZ03 组的 TNF- α 浓度



a、b、c 不同字母间表示差异显著 $P < 0.05$
Different letter superscripts denote significant differences at $P < 0.05$

图 5 攻毒后 PRRSV N 蛋白抗体水平变化

Fig. 5 Virus-specific antibody response of piglets as measured by ELISA



a. 正常对照组肺; b. FJZ03 攻毒后肺病变; c. FJLYDX 攻毒后肺病变

a. Normal lung from control pigs; b. Lung tissues from pigs inoculated with FJZ03; c. Lung tissues from pigs inoculated with FJLYDX

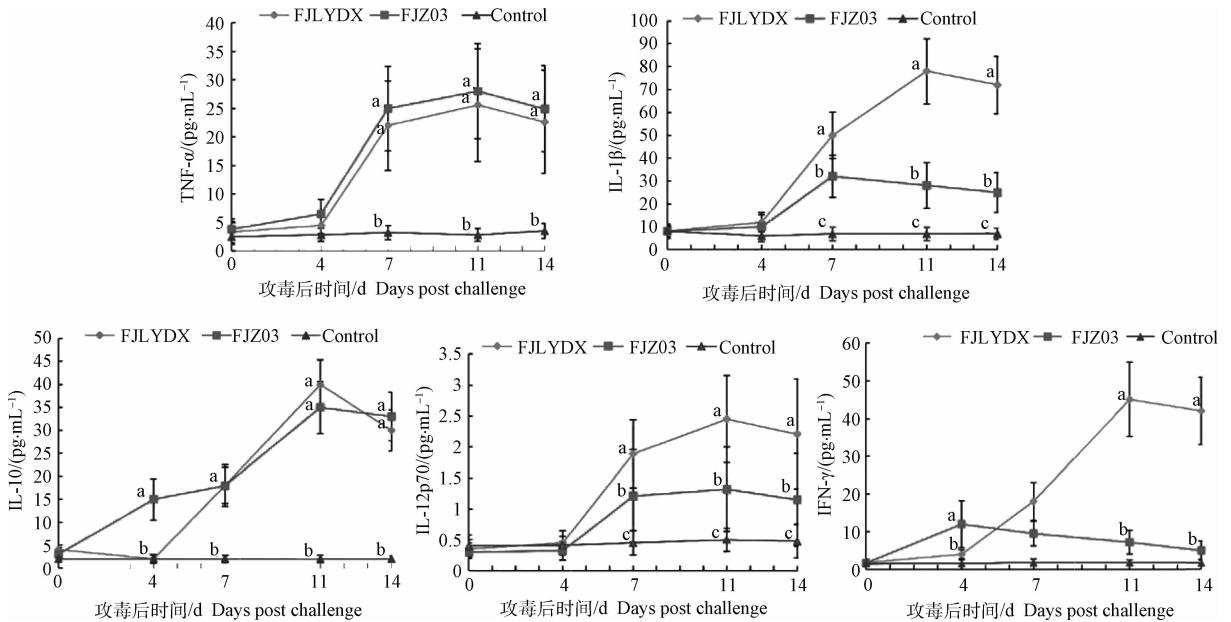
图 6 攻毒后 14 d 猪肺的显微病理变化 (200×)

Fig. 6 Lung tissues collected at autopsy at 14 DPC were fixed in 10% neutral-buffered formalin and routinely processed for histological examination (200×)

略高于 FJLYDX 组, 没有统计学意义。IL-1 β 浓度在 11 DPC 达到最高, FJLYDX 组在 7、11 和 14 DPC 显著高于 FJZ03 组 ($P < 0.05$)。FJZ03 组 IL-10 的浓度在 4 DPC 迅速升高, 显著高于 FJLYDX 组 ($P < 0.05$), 11 DPC 达到最高; 而 FJLYDX 组的 IL-10 的浓度在 7 DPC 迅速升高, 11 DPC 达到最高 ($P < 0.05$)。FJZ03 和 FJLYDX 组血清中 IL-12p70 浓度在 7、11 和 14 DPC 时差异显著 ($P < 0.05$)。FJZ03 组 IFN- γ 浓度在 4 DPC 迅速升高, 显著 ($P < 0.05$) 高于 FJLYDX 组, 然后逐渐下降, 显著 ($P < 0.05$) 低

于 FJLYDX 组 (图 7)。

2.6.2 支气管冲洗液细胞因子的变化 攻毒后 14 d 剖杀所有猪, 无菌摘除肺后, 用 50 mL 不含抗生素的 DMEM 无菌冲洗支气管, 收集冲洗液, $3\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 上清液用于细胞因子检测, 检测结果如图 8。与对照组相比, 两组攻毒组 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、IFN- γ 和 IL-10 的浓度都有不同程度的升高, FJZ03 组的 IL-10 和 TNF- α 的浓度显著 ($P < 0.05$) 高于 FJLYDX 组, 而 IL-1 β 、IL-8 和 IFN- γ 显著 ($P < 0.05$) 低于 FJLYDX 组 (图 8)。

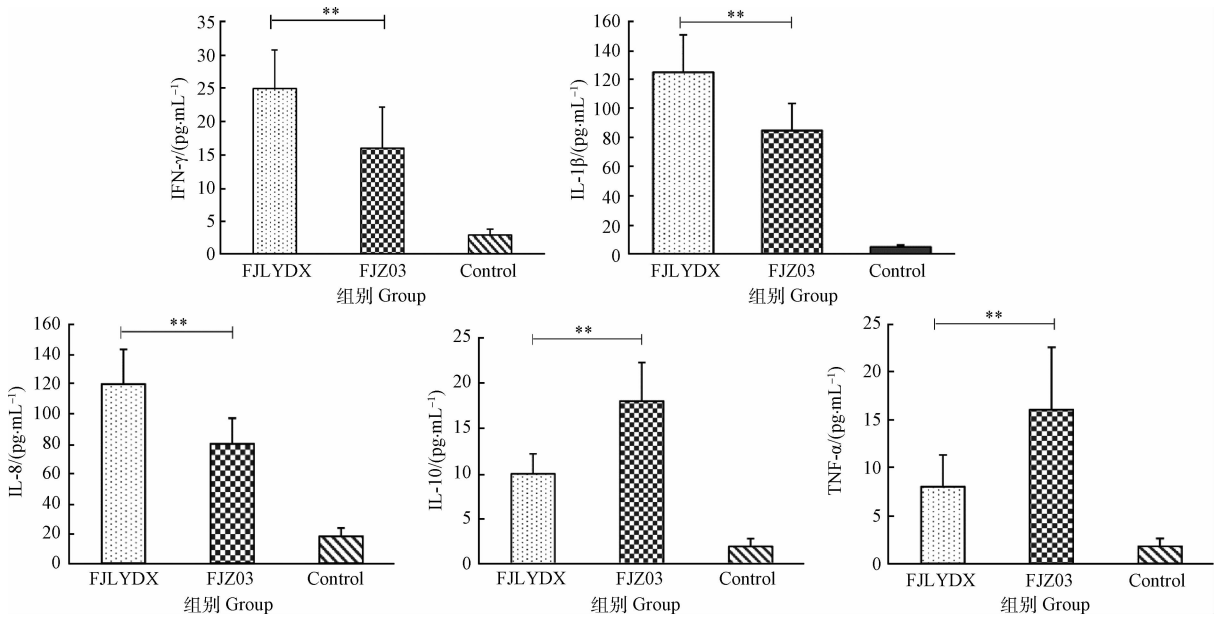


a, b, c 不同字母间表示差异显著 $P < 0.05$

Different letter superscripts denote significant differences at $P < 0.05$

图 7 血清中细胞因子浓度变化

Fig. 7 Change of cytokine concentration in serum samples at specified days post exposure



* * . $P < 0.05$

图 8 支气管洗液中细胞因子浓度变化

Fig. 8 Change of cytokine concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALF)

3 讨论

研究表明 PRRSV 的毒力不仅与病毒滴度有关,还与病毒在动物体内复制的速度和时间有关^[6, 17]。接种 FJZ03 仔猪体内的病毒载量迅速上升,7 DPC 时达到最高,与 FJLYDX 攻毒组相比,FJZ03 毒株能更早地诱发仔猪发热,可能与该毒株在体内能较快地复制和产生较高的病毒载量有关。FJZ03 攻毒后在猪的鼻、咽喉分泌物中检测到 PRRSV 核酸的时间早于 FJLYDX 攻毒组,表明猪群感染 FJZ03 毒株后能迅速向环境中排毒,从而感染其他猪,导致此类毒株的迅速传播。猪感染 PRRSV 后体温的变化与病毒载量密切相关,提示猪在高热期是排毒的活跃期,猪场可根据猪体温的变化情况采取合理的措施,防止 PRRSV 在猪群传播,减少经济损失。FJZ03 组仔猪体温升高在 3 DPC 时达到最高(平均体温 40.5℃),并出现明显的呼吸症状,整个试验过程中没有出现仔猪死亡,与 Zhou 等^[18]的研究结果相似。病理剖检显示,FJZ03 攻毒组仔猪主要的病理变化为间质性肺炎,出血性坏死性肾炎,全身淋巴结出现不同程度的淋巴结炎,胸腺萎缩以及脾出血等,与 HP-PRRSV 引起的病理变化相似。此外,FJZ03 引起猪脾萎缩,不同于其他 HP-PRRSV 毒株引起脾大的病理变化,具体原因

有待进一步研究。序列分析表明,FJZ03 与 FJLYDX 的 N 蛋白的相似性仅为 90.2%。FJZ03 N 蛋白序列与 FJLYDX、VR2332 进行比对,发现 FJZ03 N 蛋白存在几处独有的氨基酸突变:K⁷R、K¹⁰N、S³⁴R、K⁴⁸R 和 Q⁸⁰R,这些氨基酸的突变可能会影响 N 蛋白的结构和抗原性,从而影响 ELISA 血清学检测结果^[19]。

细胞因子检测结果显示,攻毒后 FJZ03 组细胞因子的浓度都有不同程度的升高,与 FJLYDX 组相比最明显的是产生较高水平的 TNF- α 和 IL-10。研究表明,IL-10 在 PRRSV 对宿主产生免疫抑制的过程中起着主要作用,IL-10 表达与 PRRSV 复制呈显著正相关^[20]。本研究用 FJZ03 毒株接种仔猪,并对其血清中 IL-10 浓度进行了检测,检测结果显示,猪感染 FJZ03 后血清呈现较高浓度的 IL-10,和之前的研究结果相似^[21-23]。FJZ03 接种仔猪后,IL-10 的大量表达可能有利于 FJZ03 在仔猪肺的快速复制。PRRSV 诱导机体产生不同水平的 TNF- α 表达可能与 ORF1a 的变异程度有关^[24]。FJZ03 攻毒后血清中 TNF- α 在整个试验过程中维持较高的浓度,可能与 FJZ03 的 ORF1a 与 HP-PRRSVs、CH-1a 和 VR2332 毒株氨基酸相似性较低,变异程度较大以及病毒本身的固有差异有关,具体原因有待进一步研究。高水平的 TNF- α 表达可以诱导产生 IL-10 以控制炎症反应^[25],FJZ03 组猪体产生较高浓度

TNF- α 从而诱发机体产生高水平的 IL-10, 从而导致 PRRSV 在体内快速增殖。

综上所述, FJZ03 对仔猪的致病能力较强, 能较早地向环境中排毒, 值得注意的是类 NADC30 PRRSV 与田间流行毒株重组的报道越来越多, 因此有必要采取有效措施来防控该类毒株, 除了研发新型高效安全的疫苗之外, 猪场更应该加强生物安全措施。

4 结 论

本研究通过动物试验研究类 NADC30 PRRSV FJZ03 毒株对仔猪的致病性, 结果表明该毒株能在猪体内快速复制, 引起仔猪较高滴度的病毒血症, 体温升高和体外排毒时间均早于 FJLYDX 毒株, 并能引起严重的间质性肺炎, 表明 FJZ03 对仔猪具有较强的致病性。

参考文献 (References):

- [1] NEUMANN E J, KLIEBENSTEIN J B, JOHNSON C D, et al. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States[J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2005, 227(3): 385-392.
- [2] ZHOU L, YANG H C. Porcine reproductive and respiratory syndrome in China[J]. *Virus Res*, 2010, 154(1-2): 31-37.
- [3] AN T Q, TIAN Z J, XIAO Y, et al. Origin of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus, China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16(2): 365-367.
- [4] TIAN K G, YU X L, ZHAO T Z, et al. Emergence of fatal PRRSV variants; unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark [J]. *PLoS One*, 2007, 2(6): e526.
- [5] TONG G Z, ZHOU Y J, HAO X F, et al. Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome, China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(9): 1434-1436.
- [6] BROCKMEIER S L, LOVING C L, VORWALD A C, et al. Genomic sequence and virulence comparison of four type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains[J]. *Virus Res*, 2012, 169(1): 212-221.
- [7] ZHOU L, WANG Z C, DING Y P, et al. NADC30-like strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(12): 2256-2257.
- [8] ZHANG Q Y, JIANG P, SONG Z B, et al. Pathogenicity and antigenicity of a novel NADC30-like strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerged in China[J]. *Vet Microbiol*, 2016, 197: 93-101.
- [9] ZHAO K, YE C, CHANG X B, et al. Importation and recombination are responsible for the latest emergence of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in China[J]. *J Virol*, 2015, 89(20): 10712-10716.
- [10] 魏春华, 刘建奎, 戴爱玲, 等. 福建 NADC30-like PRRSV FJLY01 株的全基因组分子特征分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2017, 45(3): 51-60, 67.
- WEI C H, LIU J K, DAI A L, et al. Molecular characterization of NADC30-like PRRSV isolate FJLY01 from Fujian[J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2017, 45(3): 51-60, 67. (in Chinese)
- [11] LIU J K, ZHOU X, ZHAI J Q, et al. Genetic diversity and evolutionary characteristics of type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus in southeastern China from 2009 to 2014[J]. *Arch Virol*, 2017, 162(9): 2603-2615.
- [12] LIU J K, ZHOU X, ZHAI J Q, et al. Emergence of a novel highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in China[J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64(6): 2059-2074.
- [13] LIU J K, ZHOU X, ZHAI J Q, et al. Recombination in JXA1-R vaccine and NADC30-like strain of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses [J]. *Vet Microbiol*, 2017, 204: 110-120.
- [14] 冷 雪. 高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒分离鉴定、遗传变异及致病性分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- LENG X. Isolation, identification, genetic mutation and pathogenicity analysis of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012. (in Chinese)
- [15] ZHAO H J, HAN Q G, ZHANG L, et al. Emergence of mosaic recombinant strains potentially associated with vaccine JXA1-R and predominant circulating strains of porcine reproductive and respiratory

- syndrome virus in different provinces of China[J]. *Virol J*, 2017, 14: 67
- [16] GUO B Q, LAGER K M, SCHLINK S N, et al. Chinese and Vietnamese strains of HP-PRRSV cause different pathogenic outcomes in United States high health swine[J]. *Virology*, 2013, 446(1-2): 238-250.
- [17] HAN K, SEO H W, OH Y, et al. Comparison of the virulence of European and North American genotypes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in experimentally infected pigs[J]. *Vet J*, 2013, 195(3): 313-318.
- [18] ZHOU L, YANG B N, XU L, et al. Efficacy evaluation of three modified-live virus vaccines against a strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus NADC30-like[J]. *Vet Microbiol*, 2017, 207: 108-116.
- [19] JOHNSON W, ROOF M, VAUGHN E, et al. Pathogenic and humoral immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) are related to viral load in acute infection [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2004, 102(3): 233-247.
- [20] WONGYANIN P, BURANAPRADITKUN S, CHOKESHAI-USAHA K, et al. Induction of inducible CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes by porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2010, 133(2-4): 170-182.
- [21] DÍAZ I, DARWICH L, PAPPATERRA G, et al. Immune responses of pigs after experimental infection with a European strain of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *J Gen Virol*, 2005, 86(7): 1943-1951.
- [22] CHARERNTANTANAKUL W, KASINRERK W. Interleukin-10 antisense oligodeoxynucleotide suppresses IL-10 expression and effects on proinflammatory cytokine responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. *Viral Immunol*, 2010, 23(4): 425-435.
- [23] SURADHAT S, THANAWONGNUWECH R, POOVORAWAN Y. 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(2): 453-459.
- [24] GUDMUNDSOTTIR I, RISATTI G R. Infection of porcine alveolar macrophages with recombinant chimeric porcine reproductive and respiratory syndrome virus: effects on cellular gene transcription and virus growth [J]. *Virus Res*, 2009, 145(1): 145-150.
- [25] CYKTOR J C, TURNER J. Interleukin-10 and immunity against prokaryotic and eukaryotic intracellular pathogens [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(8): 2964-2973.

(编辑 白永平)