

# 伪狂犬病病毒的先天性免疫逃避机制研究进展

顾章媛

上海市第一妇婴保健院 上海 310000

**摘要:** 伪狂犬病病毒 (Pseudorabies Virus, PRV) 作为猪传染病的主要病原体之一, 其免疫逃避机制对疫苗开发提出了严峻挑战。PRV 通过多种策略逃避宿主的先天免疫响应, 包括基因修饰和免疫逃逸基因的删除, 这些策略为新型减毒活疫苗的开发提供了理论基础。减毒活疫苗不仅在预防 PRV 感染中发挥重要作用, 还可以作为开发针对多种病原体的多价疫苗的理想载体, 特别是对呼吸道相关病原体的预防。此外, 适当的分子佐剂能够显著增强疫苗的保护效果。尽管市场上已有多种 PRV 疫苗, 但随着 PRV 变种和其他病原体的不断出现, 新型疫苗的研发变得尤为紧迫。本综述详细介绍了 PRV 的先天性免疫逃避机制以及当前减毒活疫苗和多价疫苗的研究进展, 为未来疫苗的开发提供了重要参考。

**关键词:** 伪狂犬病病毒; 先天性免疫逃避; 减毒活疫苗; 多价疫苗; 分子佐剂; 免疫响应; 疫苗开发

## 1. 引言

伪狂犬病病毒 (Pseudorabies Virus, PRV), 亦称为奥杰斯基病, 是一种属于  $\alpha$ -疱疹病毒亚科的病原体。PRV 的宿主范围广泛, 尽管其主要宿主是猪, 但也能感染包括人类、猫、狗、山羊和牛在内的多种哺乳动物。猪感染 PRV 后可表现出呼吸道、生殖系统和神经系统的症状, 且不同生长阶段的猪表现出不同的症状。例如, 新生仔猪感染后常表现出神经系统症状, 死亡率可达 100%, 而成年猪则可能仅呈现轻微的呼吸道症状, 但能在神经系统中形成终生潜伏感染, 此类感染有可能被重新激活, 从而成为病毒的动态储藏库<sup>[1]</sup>。

## 2. PRV 的先天免疫调节机制

### 2.1. 干扰素 $\text{-I}$ 系统

I 型干扰素 (Type I Interferon, IFN-I) 介导的先天免疫反应是宿主对抗病毒感染最有效的防御机制之一。然而, 病毒在其漫长的进化过程中演化出了众多策略, 以规避宿主的免疫防御系统。伪狂犬病病毒通过多种机制调控宿主的先天免疫响应。使用微阵列技术研究野生型 PRV 株感染细胞时, 发现通常由 IFN- $\beta$  诱导的基因表达会受到抑制。

PRV 编码了一系列蛋白, 以规避 IFN-I 介导的先天免疫反应, 其主要目标是 cGAS-STING 信号通路和 IFN-I 信号通路。核因子  $\text{-}\kappa\text{B}$  (Nuclear Factor- $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ ) 在调控免疫、炎症反应、细胞增殖及存活中扮演着关键角色。NF- $\kappa\text{B}$  的主要存在形式是 p50 和 RelA 亚基构成的异二聚体, 它与 I $\kappa\text{B}$  家族蛋白结合, 处于非活性状态。当细胞受

到应激、细胞因子或病原体刺激时, I $\kappa\text{B}\alpha$  被磷酸化并降解, 释放 NF- $\kappa\text{B}$  进入细胞核, 激活基因转录。

PRV 感染显著干扰了细胞的 NF- $\kappa\text{B}$  信号通路。最近的研究显示, PRV 编码的 UL13 蛋白通过抑制 RIG-I 和 MDA5 的转录来调控 NF- $\kappa\text{B}$  活化, 进而抑制由 RLR 介导的 IFN- $\beta$  产生, 从而逃避先天免疫。此外, UL24 通过与 p65 互作并介导蛋白酶体途径的 p65 降解, 损害了 NF- $\kappa\text{B}$  的激活<sup>[2]</sup>。

### 2.2. 细胞凋亡、自噬和坏死性凋亡

细胞凋亡的特点包括细胞膜起泡、染色质凝聚和 DNA 碎片化, 同时保持膜的完整性以形成凋亡小体。细胞凋亡作为宿主抵御病原体侵袭的机制之一, 能够导致受感染细胞提前死亡, 中断病毒的复制, 并通过轻微释放抗原来诱发特异性免疫反应。已有研究报告表明, PRV 能诱发细胞凋亡。PRV 的 US3 和 gE 蛋白不仅能拮抗干扰素系统, 还能通过不同途径抑制细胞凋亡。例如, US3 通过激活 PI3K/Akt 和 NF- $\kappa\text{B}$  途径来抑制凋亡, 而 gE 则通过磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (Phosphorylated Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2, ERK1/2) 来降解促凋亡蛋白 Bim。

DNA 损伤反应 (DNA Damage Response, DDR) 对维持基因组的完整性至关重要, 可以根据损伤的严重程度触发 DNA 修复、细胞周期阻滞或细胞凋亡。PRV 感染会导致宿主细胞 DNA 受损, 从而诱发凋亡, 最近的研究揭示了 PRV 与 DDR 之间存在更深层次的相互作用。磷酸化的

H2AX 是 DDR 的标志之一, 而 PRV 的 UL13 能与 H2AX 相互作用并促进其磷酸化, 以推动病毒复制。含有富亮氨酸的 PPR 基序蛋白 (Leucine-Rich PPR Motif-Containing Protein, LRPPRC) 是一种多功能蛋白, 也是首个被识别的独立于 caspase 的凋亡蛋白。最近, Xu 等发现 PRV 的 UL16 蛋白与 LRPPRC 相互作用, 抑制 LRPPRC 激活 NF- $\kappa$ B, 而 LRPPRC 是限制 PRV 复制的宿主因子。这些基因成为开发新型减毒活疫苗的有希望靶标。

自噬过程不仅用于更新细胞内部分子, 还在细胞饥饿期间为细胞提供必要的能量和物质。越来越多的研究表明, 自噬是免疫反应不可或缺的组成部分。PRV 能够通过经典的 Beclin-1-Atg7-Atg5 途径诱导细胞自噬, 从而促进其复制。最近的研究表明, PRV 感染显著激活了 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路, 可能通过上调病毒诱导的自噬来促进病毒增殖。

坏死性凋亡是一种与细胞凋亡不同的细胞死亡模式。它通过受体相互作用蛋白激酶 3 及其合作伙伴的协助, 激活混合线粒体结构域蛋白, 导致细胞膜破裂、大量损伤相关分子释放并触发炎症反应。已有研究表明, PRV 通过 RIPK3 依赖的途径引发细胞的坏死性凋亡, 抑制坏死性凋亡可增加 PRV 的复制。虽然目前尚不清楚 PRV 是否直接抑制坏死, 但其他一些疱疹病毒, 例如小鼠巨细胞病毒通过编码 M45/vIRA 来抑制 RIPK3 的活性, 同样, HSV-1 通过编码核糖核苷酸还原酶大亚基与人类细胞中的 RIPK3 相互作用, 从而抑制 RIPK3 活性, 防止坏死性凋亡。这表明 PRV 可能具备通过抑制坏死性凋亡来促进其复制的潜能。

### 3. PRV 变种的基因组进化

如今, 欧美多国已宣布无 PRV 感染, 中国通过接种 Bartha K61 疫苗有效控制了 PRV。然而, 自 2011 年以来, 中国东部和北部多个养猪场爆发了 PRV 感染, 且这些猪已接种 PRV 疫苗。2011 年之前, PRV 只有一种血清型, 尽管不同 PRV 分离株的生物学特性有所不同。gB、gC 和 gD 是主要抗原基因, 易突变, 常用于 PRV 系统发育分析。独立分析这些抗原基因有助于了解疫苗与不同毒力株的关系。研究表明, gC 和 gD 的突变对 PRV 逃避 Bartha K61 诱导的免疫至关重要。

自然突变和重组促进了 PRV 毒株的多样性。中国东部养猪场采集的 PRV 样本, 根据 gC 基因显示这些 PRV 属于进化枝 2。主要 PRV 分离株内 gB、gC、gD 和 gE 的氨基酸

序列差异分别为 4.0%、0.7%、0.3% 和 1.1%。与 Bartha K61 疫苗株相比, 这些分离株在多个蛋白质位点有突变, 特别是 gC 上的 S41G、R162H 和 S345L 变化可能影响受体结合或糖基化, 导致 PRV 变种的出现<sup>[3]</sup>。

## 4. PRV 活疫苗

### 4.1. 减毒活疫苗

大部分 PRV 疫苗是基于特定基因删减的减毒活疫苗。在 PRV 的 US 区, 基因 US3、US7 和 US8 被认为是主要的毒力基因, 同时也是对 PRV 复制并非核心的非必需基因。US2 基因在大部分疱疹病毒中具有保守性, 它通过调控 ERK 的定位从而间接影响 MAPK 信号通路的活性。PRV US2 基因的删除可以提高病毒滴度。US9 是一种膜蛋白, 在疱疹病毒 (包括 PRV) 的逆向神经传输中发挥关键作用。UL23 基因编码的非结构蛋白 PK 与 PRV 的毒力有关, 但几乎不具备免疫原性。目前, 这些基因经常被选用作 PRV 疫苗的减毒成分。

首个减毒活 PRV 疫苗株 Bartha K61 被认为是改良活疫苗中的佼佼者之一。Bartha K61 疫苗株是通过在体外连续传代获得减毒特性的。研究人员在 Bartha K61 的 US 区域发现了多项基因的缺失, 包括 US8 和 US9 基因的完全缺失以及 US7 和 US2 的部分缺失。随着 PRV 遗传学和分子生物学领域的发展, 对 PRV 基因功能的理解不断加深, 通过应用多种先进技术, 正在开发出越来越多基因缺失的 PRV 疫苗。利用同源重组、细菌人工染色体 (BAC) 和 CRISPR/Cas9 基因编辑系统等先进的基因工程技术, 可以快速构建各种基因缺失菌株, 这些菌株成为减毒活疫苗的候选株。这些候选疫苗主要包括单基因缺失疫苗、双基因缺失疫苗、三基因缺失疫苗、四基因缺失疫苗及五基因缺失疫苗。

尽管减毒活疫苗在预防和控制 PR 方面具有重要性, 但关于这些疫苗在易感动物中的安全性, 一些研究人员持有质疑态度。例如, 减毒疫苗株 rPRVTJ-delgE/gI 对猪是无毒的, 但对羊却可能致命, 这表明仅仅删除 gE 和 gI 可能不足以完全减毒。TK/gE 双基因缺失的 PRV AH02LA 株构建的疫苗在无 PRV 抗体的 1 日龄仔猪中导致死亡, 而基于 PRV  $\Delta$ TK&gE-AH02 的 PK 基因删除的疫苗在接种新生仔猪后未引起临床症状。最近的研究表明, gE/TK 缺失株进一步缺失 US3 基因的疫苗, 在中和抗体、细胞因子水平以及组织驻留记忆 T 细胞方面, 对小鼠具有更好的免疫原性<sup>[4]</sup>。

#### 4.2. 针对多种病原体的重组 PRV 减毒活疫苗

猪在养殖过程中面临着多种病原体的威胁，包括病毒、细菌、寄生虫等。近年来，非洲猪瘟、伪狂犬病、猪繁殖与呼吸综合征等传染病频繁爆发，疫苗接种是应对这些疾病的有效方法。然而，现场常见多种混合感染，短时间内接种多种疫苗具有挑战性。

通过在病毒基因组中插入异源抗原基因以增强免疫保护成为一个重要研究领域。PRV 的基因组空间较大，可删除某些基因以减毒而不影响其免疫原性。已有多种基于 PRV 的载体疫苗开发，如针对日本脑炎病毒、猪瘟病毒、口蹄疫病毒等。这些多价疫苗显示了多种疾病的预防效果，但其在猪中的安全性和有效性仍需研究。

研究表明，基因删除的减毒 PRV 可能是开发多价疫苗的理想载体。结合分子佐剂增强疫苗效果也是关键，例如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和结核分枝杆菌的热休克蛋白 70c。PRV 对外源基因插入和分子佐剂显示出良好的容忍性，未来可能成为更有效的多价疫苗平台<sup>[5]</sup>。

#### 5. 结论

PRV 仍是猪传染病的主要病因之一，并且人类对其风险的认识也在增加。PRV 通过多种策略逃避宿主的先天免疫响应，修饰或删除其免疫逃逸基因是开发新型减毒活疫苗的希望途径。这类疫苗也适合作为多种病原体（如病毒、细菌和支原体）的多价疫苗载体，尤其是呼吸道相关病原体。此外，分子佐剂的加入可显著增强疫苗效果。尽管已有多种

PRV 疫苗，但变种病毒的流行迫切需要新型疫苗以应对未来挑战。

#### 参考文献：

- [1] 程国华, 张泽林, 刘璐等, 猪伪狂犬病的流行诊断及防控措施 [J]. 浙江畜牧兽医, 2024, 49(2): 31-2.
- [2] 梁超, 童武, 郑浩等, 基于 iTRAQ 技术伪狂犬病毒感染宿主细胞差异表达蛋白质组分析简 [J]. 中国兽医学报, 2017, 37(6): 5.
- [3] 丛鑫, gE/gI/TK 三基因缺失伪狂犬病毒变异株的安全性和免疫原性评价 [J]. 2015.
- [4] Cong X, Lei J L, Xia S L, et al. Pathogenicity and immunogenicity of a gE/gI/TK gene-deleted pseudorabies virus variant in susceptible animals [J]. Veterinary Microbiology, 2016, 182: 170-7.
- [5] 王东亮, 张素姣, 王乃东等, 基于 PCV2 VLPs 为载体的多价疫苗的分子设计及其免疫原性评价 [J]. 第三届中国猪业科技大会暨中国畜牧兽医学学会 2019 年学术年会论文集, 2019.

#### 作者简介：

顾章媛 (1995 -) 女, 汉族, 籍贯: 江苏扬中人, 学历: 博士研究生, 单位: 上海市第一妇婴保健院, 职称: 住院医师, 研究方向: 伪狂犬病病毒的先天性免疫逃避机制对外科感染管理的影响研究。