

· 学科进展 ·

# 动物疫病的免疫调控：研究进展与关键科学问题\*

胡景杰<sup>1\*\*</sup> 肖少波<sup>2</sup> 郭鑫<sup>1</sup> 孟庆峰<sup>1</sup> 杜生明<sup>1</sup>

(1. 国家自然科学基金委员会, 北京 100085; 2. 华中农业大学, 武汉 430070)

**[摘要]** 随着气候环境变化、免疫压力选择与养殖模式的改变, 动物疫病日趋复杂, 重大动物疫病的预防和控制工作遇到空前的挑战。免疫调控领域既是动物疫病研究的前沿, 又是短板和瓶颈。2013年10月16—17日, 国家自然科学基金委员会生命科学部、化学科学部与政策局联合召开了主题为“动物疫病的免疫调控”的第103期“双清论坛”, 来自国内26个单位的30余名专家学者共同研讨动物疫病免疫调控领域的研究现状、发展趋势及需要应对的挑战, 凝练我国在该研究领域亟需关注和解决的重要基础科学问题, 探讨前沿研究方向和科学基金资助重点, 提出具有前瞻性的政策建议。

**[关键词]** 动物, 疫病, 免疫调控

## 1 动物疫病免疫调控领域的重大需求和展现现状

动物疫病的控制历来是各国政府高度关注的重要工作之一。重大动物疫病的暴发不仅给所在国家和地区带来巨大的经济损失和社会影响, 而且成为影响国际贸易, 甚至国家之间关系的重要因素。我国是世界养殖大国, 养殖业在国民经济中占有重要的地位, 并成为农业和农村经济中的支柱产业, 但我国养殖业的经济效益远没有达到世界平均水平, 究其原因主要还是疫病问题。我国每年因疾病导致畜禽死亡而造成的直接经济损失达400亿元以上, 而且, 随着气候环境变化、免疫压力选择与养殖模式的改变, 动物疫病呈现变异速度加快、毒力不断增强、跨种感染增多、老病未除而新病又发的复杂局面, 如: 多年来不断威胁我国养殖业的口蹄疫, 2006年席卷我国的高致病性蓝耳病<sup>[1]</sup>, 2010年在我国爆发的猪流行性腹泻<sup>[2]</sup>, 2012年卷土重来的猪伪狂犬病<sup>[3]</sup>。每一次新的疫病发生, 都给我国养殖业造成严重的经济损失。可以说, 疫病频发已成为阻碍养殖业可持续发展的重要瓶颈。鉴于此, 动物疫病防

控理论与技术的突破作为国家经济和社会发展过程的重大国家科技需求, 列入了《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020年)》和《国家农业科技发展纲要(2006—2020年)》。

当今动物疫病已不是一个简单的疾病问题, 而是演变成了一个国际政治、经济和社会问题。据美国疾病预防控制中心(CDC)的统计资料表明, 人的传染病60%来源于动物, 50%的动物传染病可以传染给人, 当今人类新发传染病75%来自动物(<http://www.cdc.gov/ncezid/>)。从全球来看, 人类面临着人兽共患病的威胁越来越严峻。目前已证实的人兽共患传染病有200多种, 其中大多数由家畜、驯养动物、宠物和野生动物传染给人类, 在许多国家普遍存在的人兽共患传染病有54种, 其中20世纪70年代以来, 在世界范围内新出现的人兽共患传染病就有30多种, 对人类与动物的健康形成旷日持久的威胁(<http://www.onehealthinitiative.com/>)。2004年5月25日联合国粮食及农业组织(FAO)与世界动物卫生组织(OIE)签署一项合作协议, 以加强在控制动物疾病跨境传播方面的协调与合作。声明说: “近年来动物疾病传播以及向人传染现象不断上升, 不但威胁人类健康, 还在经济和社会领域给各

\* 本文内容根据第103期“双清论坛”讨论内容整理。

\*\* Email: [hujj@nsfc.gov.cn](mailto:hujj@nsfc.gov.cn)

本文于2014年8月29日收到。

国造成冲击”。

疫苗免疫是控制动物疫病最经济、最有效的手段。在过去的20年间,针对各种动物疫病的疫苗得到了快速发展,在重要动物疫病的预防和控制中发挥了重要作用。但是,由于对病原的免疫调控机理了解不够深入,导致疫苗的研发缺乏基于病原与宿主免疫系统相互作用的现代免疫学理论指导,很多疫病的疫苗研究遇到技术瓶颈,部分疫苗的应用效果比较差,甚至出现毒副反应。因此,加强疫病免疫调控的研究,为新型疫苗研究和防控技术开发提供理论依据,已成为动物疫病研究领域的共识。但是,由于起步较晚,免疫调控领域既是动物疫病研究前沿,又是短板和瓶颈。最近几年,国内外学者围绕重要动物疫病的免疫调控,开展了一系列深入研究,取得了一些具有带动作用的进展,推动了动物疫病的免疫调控研究快速发展。

本期“双清论坛”针对国内外动物疫病免疫调控的研究现状、发展趋势及需要应对的挑战,重点就免疫识别与免疫逃逸、炎症反应及其调控网络、天然免疫与疫病防控等三个方面进行研讨。

### 1.1 免疫识别与免疫逃逸

免疫识别是病原和宿主免疫系统相互感知、相互作用的首要过程,也是诱导和触发机体产生免疫应答的基础。通过免疫识别及其信号转导,机体产生天然免疫应答和获得性免疫应答,从而抵抗或清除病原,保证机体的健康。

在动物疫病的免疫识别研究方面,以前人们对于获得性免疫中免疫识别的机制研究较多,重点研究了病原的抗原结构和组成对获得性免疫识别的影响。通过这些研究,阐明了部分病原的主要免疫原性蛋白、主要保护性抗原以及主要抗原的B细胞表位、T细胞表位、中和表位等,揭示了树突状细胞、巨噬细胞、中性粒细胞以及NK细胞等免疫细胞在识别病原中的作用,为新型疫苗的设计与诊断技术的开发提供了理论基础。

近年来,天然免疫系统对病原的识别机制研究越来越受到重视,主要研究免疫细胞如何识别病原感染以及随后触发的干扰素与炎症因子等天然免疫效应分子的产生过程及其调控机制。病原微生物的表面通常含有重复的分子结构模式,如:细菌的脂多糖和鞭毛、病毒复制过程中产生的大量双链RNA等,这些具有重复结构的病原微生物成份被统称为“病原相关分子模式”(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。天然免疫反应是由识别

PAMPs的受体来介导的,即模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)。按照PRRs的结构特点,可以将PRRs分为Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、RIG-I样受体(RIG-I-like receptors, RLRs)、NOD样受体(NOD-like receptors, NLRs)、C型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLR)以及DNA受体、清道夫受体、补体受体等<sup>[4]</sup>。探索不同动物PRRs的种类、解析PRRs的结构、阐明PRRs如何识别PAMPs的机制、解析特定病原如何被PRRs识别及其下游信号转导通路是当前研究动物天然免疫识别的重点。

近10年来,欧洲、美国等发达国家先后启动了一系列项目资助动物天然免疫识别与信号转导方面的研究,如英国生物技术与生物科学研究委员会(BBSRC)、农村与环境研究分析理事会(RERAD)于2004年联合启动了牛、羊、猪、鸡、马等五个种属免疫相关分子的功能与试剂研究项目;美国农业部2005年启动了鲶鱼、猪、马、家禽、鲑鱼等动物免疫相关分子的功能研究,并于2009年对该项目延续资助<sup>[5]</sup>。除此之外,国际上其它研究机构和学者也在大力开展相关领域的研究,取得了一些有显示度的成果,如:克隆鉴定了猪、牛等家畜TLRs、RLRs、NLRs的分子并阐明其在识别DNA病毒、RNA病毒模拟物中的作用<sup>[6]</sup>;揭示了无脊椎动物的CLRs成员众多、结构多样并且其识别机制不同于脊椎动物;发现棘皮动物、头索动物、软体动物分别拥有222个、48个和17个TLRs成员,显著多于哺乳动物(12个TLRs)<sup>[7]</sup>。这些研究,极大地推动了动物天然免疫识别机制与信号转导研究的发展。当然,也应该清楚地意识到,同人类和实验动物小鼠相比,养殖动物天然免疫的识别机制研究还不够深入,有很多模式识别受体、接头分子、效应分子还有待挖掘,其信号转导途径及其调控网络还有待解析,不同的天然免疫识别受体之间功能的交叉或互补尚需深入探讨。

从本质上看,疫病的发生、发展和转归实际上就是病原与宿主之间的博弈过程。宿主的免疫系统在长期的进化过程中形成了一套高度复杂和精细调控的免疫防御机制抵抗病原体的感染,病原体也在漫长的进化过程中获得了各种抑制或逃逸机体免疫反应的机制,包括抑制或逃逸获得性免疫与天然免疫,从而成功实现感染并致病。

逃逸天然免疫系统的识别是大多数病原突破宿主第一道免疫防线的基础。宿主的模式识别受体能

有效区分“自我”和“非我”成份,但许多病原能够模拟宿主的 RNA 修饰或改变自身病原相关分子模式,达到不被宿主模式识别受体识别的目的,如:甲型流感病毒能将宿主细胞的一些 RNA 片段“攫取”到病毒自身 RNA 上,从而逃逸 RIG-I 模式识别受体的识别<sup>[8]</sup>;痘病毒和轮状病毒也可以利用宿主细胞的 RNA 加工酶使其新生 RNA 具有与宿主 RNA 类似的 5'端甲基化帽子结构,从而逃逸模式识别受体识别<sup>[8]</sup>;幽门螺杆菌合成改良的 LPS,可不被 TLR4 识别<sup>[9]</sup>;空肠弯曲菌合成不同亚类的鞭毛蛋白,从而不能活化 TLR5<sup>[10]</sup>。此外,病原还可以通过编码 RNA 结合蛋白、模拟细胞的表面受体等机制逃逸模式识别受体的识别或介导下游的信号转导。

阻断天然免疫的信号转导是病原逃逸宿主天然免疫的另外一种有效策略。病原可以通过多种机制阻断天然免疫的信号转导,包括病原编码蛋白与模式识别受体相互作用、降解接头蛋白、抑制信号分子的磷酸化或泛素化、阻止转录因子的磷酸化或核转运等。如:流感病毒编码的非结构蛋白 NS1 能与模式识别受体 RIG-I 直接相互作用,抑制 RIG-I 介导的 I 型干扰素产生<sup>[11]</sup>;布鲁菌的一些毒力因子可作为 TIR 结构域结合蛋白,直接结合 TLR 的接头蛋白 MyD88,阻止 TLR 信号转导<sup>[12]</sup>;口蹄疫病毒编码的 3C 蛋白酶切割信号分子 NEMO<sup>[13]</sup>,编码的 L 蛋白通过其去泛素化蛋白酶活性消除 RIG-I、TBK1、TRAF6 等分子的泛素化,负调控干扰素产生<sup>[14]</sup>;猪繁殖与呼吸综合征病毒编码的 N 蛋白通过与转录因子 IRF3 的相互作用,阻止 IRF3 与干扰素启动子上转录因子结合位点结合,从而抑制干扰素的产生<sup>[15]</sup>。

相对于天然免疫反应,获得性免疫反应能更有效和特异地对抗病原体的感染。同样,病原体也进化出各种逃逸获得性免疫反应的机制。抗原变异是许多病原逃逸获得性免疫的主要机制。值得注意的是,在日益加大的免疫压力下,病原的变异速度加快,导致病原改变抗原决定簇,逃逸 T 细胞识别。此外,病原还可通过抑制主要组织相容性复合体 MHC-I 和 MHC-II 限制性抗原提呈、抑制 MHC-I 和 MHC-II 的表达和细胞表面定位等机制逃逸获得性免疫反应。

我国在动物疫病的免疫识别和免疫逃逸研究方面起步较晚,但发展很快,尤其是近 5 年,研究队伍不断壮大,研究水平不断提高,在某些研究方向形成了特色并处于国际领先地位,如:发现鸭存在 RIG-I

而鸡缺少 RIG-I<sup>[16]</sup>;鉴定了鱼类胞内干扰素及其受体<sup>[17]</sup>;揭示了口蹄疫病毒、猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪瘟病毒等重要动物病毒抑制干扰素产生的分子机制<sup>[13,18,19]</sup>。但是,还有很多方面急需加强,尤其是一些基础性工作,如免疫相关分子的克隆与鉴定、抗体制备、检测技术与方法的建立、免疫相关细胞的分离与培养等。完善这些技术平台,有望加快我国动物疫病免疫识别和免疫逃逸机制研究的深入和突破。

## 1.2 炎症反应及其调控网络

炎症是机体应对病原微生物等有害刺激的一种防御反应。炎症的发生和发展是一个复杂而有序的过程,也是一个由多细胞、多因素、多通路、多靶点、多层次进行精细调控的复杂网络。炎症反应是一把“双刃剑”,适度的炎症反应具有限制病原感染及修复损伤的作用,但过强或过长的炎症反应会对机体造成严重损伤,失控的炎症反应,即“炎症因子风暴”,是 SARS 冠状病毒、高致病性禽流感病毒等病原导致患者或动物死亡的主要原因<sup>[20]</sup>。因此,炎症反应研究已成为病原致病与免疫机理研究的重要方面。最近几年,国际上在病原调控宿主炎症反应的信号转导途径和机制方面取得了一系列突破性进展,进一步诠释了炎症反应的复杂性,同时也为炎症这一古老、神秘而又年轻的课题注入了新的元素。

作为天然免疫反应的重要组成,炎症反应也是由模式识别受体介导。宿主通过模式识别受体识别病原相关分子模式,从而介导一系列级联反应激活炎症相关转录因子和炎症因子。目前已知的三类主要模式识别受体 TLRs、RLRs 和 NLRs 均介导炎症反应,而且新的模式识别受体还在不断被发现。值得一提的是,一些已知的模式识别受体在介导炎症反应中的新功能被不断挖掘,如 TLR4,过去认为只识别细菌的脂多糖,最近的研究发现还可以识别病毒的囊膜糖蛋白<sup>[21,22]</sup>;NLRs 家族的 NOD2,之前的研究认为只识别细菌细胞壁的主要成分 PGN 及其最小的免疫活性单元 MDP,从而触发抗细菌免疫和炎症反应。然而,2009 年的研究发现,NOD2 也是病毒 ssRNA 的识别受体,并且在病毒诱导的“炎症因子风暴”以及随后的细菌继发感染中扮演重要角色<sup>[23]</sup>。这些老受体新功能的阐明将进一步深化炎症反应机制研究。

炎症小体(inflammasome)的发现及其在病原调控炎症反应中的作用是近年来炎症反应研究领域的亮点和热点。炎症小体的概念是瑞士 Lausanne 大

学的科学家 Fabio Martinon 等于 2002 年首次提出<sup>[24]</sup>,其本质是胞浆内一组复杂的多蛋白复合体,是胱天蛋白酶(caspase)-1 活化所必需的反应平台,调控白细胞介素(IL)-1 $\beta$ , IL-18, IL-33 等促炎性细胞因子的加工及活化。目前已知的炎症小体包括 NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRC4, RIG-I, AIM2, IFI16 等<sup>[25]</sup>,而且新的炎症小体还在被不断发现。近年来,陆续发现很多病原,如牛结核分支杆菌、猪链球菌、金黄色葡萄球菌、流感病毒、猪繁殖与呼吸综合征病毒、疟原虫等均可激活炎症小体,促进炎性细胞因子的产生<sup>[26]</sup>。可以说,自从炎症小体的概念提出以来,使人们对胞内模式识别受体、炎症相关的胱天蛋白酶、促炎性细胞因子之间的关联以及它们和天然免疫之间的关系有了更深的了解。有学者预测对炎症小体的活化、调控机制的深入研究将是有关炎症、天然免疫领域研究的新生长点和突破点。

microRNA 作为一种转录后水平的基因调控机制,广泛参与神经元发育、细胞凋亡、细胞分化、脂肪代谢、激素分泌等多种生命过程。近年来的研究发现,microRNA 也参与炎症反应的调控。一些宿主的 microRNA 可以被细菌或者病毒的配体或者是炎性细胞因子所诱导表达,而且反过来靶向这些通路中的关键信号分子,从而形成一个转录后水平的反馈调控机制对炎症信号通路进行调节。同时,一些病毒和细菌自身可编码 microRNA,作用于炎症相关转录因子、炎症因子,从而达到调控炎症反应的目的<sup>[27]</sup>。microRNA 很有可能成为未来疾病治疗和诊断的靶标。

如前所述,炎症反应是一个复杂而且精细调控的网络,除了病原感染和病原成份的直接刺激可诱导炎症反应外,病原感染后引发的一系列危险信号也可以调控炎症反应,如内质网应激与未折叠蛋白反应、细胞自噬等。这些因素的参与使炎症反应网络更加复杂。随着转录组学、蛋白组学、相互作用组学、microRNA 组学等组学技术的快速发展,通过对病原感染宿主细胞后各种组学数据的关联分析,结合模式识别受体、信号分子、炎症因子、细胞自噬、内质网应激等各种细胞信号转导途径进行分析,将有望从全局水平阐明病原感染后的炎症反应网络,并成为当前研究病原调控宿主炎症反应分子机制的前沿和热点。

近年来,我国学者在动物病原调控炎症反应方面开展了大量工作,研究比较深入的有猪繁殖与呼

吸综合征病毒、猪圆环病毒 2 型、猪链球菌、禽流感病毒等。以猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)为例,我国学者发现 PRRSV 诱导炎症反应的强弱与病毒的毒力密切相关;确定了 PRRSV 编码的多种非结构蛋白具有调控炎症反应的功能,揭示了 PRRSV 可以通过 TLR4、NOD2 等模式识别受体介导炎症因子产生,PRRSV 感染激活 NLRP3 炎症小体,但抑制 RIG-I 炎症小体的功能<sup>[28,29]</sup>;阐明了 miR-125b 等 microRNA 在 PRRSV 调控炎症反应中扮演着重要角色<sup>[30]</sup>。这些研究成果不仅为阐明 PRRSV 调控炎症反应的分子机制奠定了基础,而且还为其它动物病原的研究提供了很好的借鉴。当然,相对于免疫识别和免疫逃逸研究而言,目前我国在动物病原调控炎症反应方面研究队伍和力度明显不足,今后要加强这方面的研究和投入。

### 1.3 天然免疫与疫病防控

天然免疫是宿主抵抗病原感染的第一道防线,通过非特异性识别,激活包括干扰素、细胞因子、补体和天然免疫细胞等来清除病原,抵御外来感染。同时,天然免疫系统还能通过抗原提呈来刺激获得性免疫的发生,对获得性免疫的形成以及应答的类型起着决定性作用,在宿主清除病原的免疫反应中扮演重要角色。此外,通过对病原调控天然免疫的深入研究,解释了口蹄疫等重大动物疫病传播快、发病急的原因,揭示了流感病毒、SARS 冠状病毒、猪链球菌等病原感染后导致急性肺炎的致病机制,阐明了不同禽类对高致病性禽流感病毒易感性不同的分子基础。可以说,对病原与宿主天然免疫系统相互作用的深入研究,有望创新动物疫病防控策略。主要体现在以下几个方面:

基于天然免疫的新药靶标挖掘与新药开发。很多病原编码的蛋白酶具有抑制宿主天然免疫的功能,如口蹄疫病毒编码的 3C 蛋白酶可切割 I 型干扰素信号通路中重要接头蛋白 NEMO<sup>[13]</sup>,从而抑制干扰素的产生;丙型肝炎病毒编码的 NS3/4A 酶通过水解干扰素信号通路中的两个接头分子 TRIF 和 MAVS 来抑制宿主的抗病毒天然免疫<sup>[31,32]</sup>。这些病原编码的致病性蛋白酶是潜在的药物靶标。对这些蛋白酶和底物复合物晶体结构进行研究,再通过化合物库进行高通量筛选,就有望获得抗病毒活性化合物。目前,对丙型肝炎病毒的有效药物特拉普韦(Telaprevir)就是通过抑制病毒的 NS3/4A 蛋白酶来抑制病毒的增殖<sup>[32]</sup>。但是,目前通过这种策略开发针对动物疫病的新药还尚未见报道。

利用天然免疫的理论创新疫苗的分子设计。病原通常编码一些能够抑制宿主天然免疫反应的病原增殖非必需基因,如果将这些非必需基因缺失或突变其关键氨基酸,就有望获得能诱导天然免疫反应的突变菌(毒)株,作为候选疫苗株进行开发利用,增强疫苗的免疫效果。在这方面,最典型的例子是猪伪狂犬病毒。伪狂犬病毒 TK<sup>-</sup>/gG<sup>-</sup> 基因缺失疫苗不仅具有良好的免疫原性,而且还具有紧急治疗的作用。通过研究发现,TK<sup>-</sup>/gG<sup>-</sup> 基因缺失疫苗感染后能诱导干扰素等天然免疫;同时还发现,伪狂犬病毒编码的 gG 蛋白是一种趋化因子结合蛋白,gG 缺失后,能使宿主的趋化因子快速聚集到疫苗接种部位,迅速产生免疫应答。同属  $\alpha$ -疱疹病毒亚科的鸭疱疹病毒也具有诱导天然免疫的特性,以鸭瘟病毒为载体表达禽流感病毒 H5N1 主要免疫原性蛋白 HA 的基因工程疫苗在免疫后 3 天即可产生显著的免疫保护<sup>[33]</sup>。另外,狂犬病病毒具有很强的逃逸宿主天然免疫的能力,抑制血脑屏障的打开,一旦症状出现,无药可治,死亡率接近 100%。如果通过刺激天然免疫,促进脑内适度炎症的发生,引起血脑屏障的适度打开和中和抗体的产生,就有望清除脑内的病毒。正是基于这一理论,研究人员构建了表达粒细胞集落因子(GM-CSF)的重组狂犬病病毒疫苗株。动物实验证实,在小鼠感染狂犬病病毒野毒 5 天后,大脑直接注射重组病毒仍然能够清除野毒而保护动物不发病,可作为治疗性疫苗使用<sup>[34]</sup>,为治疗性疫苗的研制提供了新的思路。

利用天然免疫的理论指导新型佐剂的开发与利用。TLRs 是十分重要的模式识别受体,可以识别多种病原相关分子模式,包括细菌的脂多糖、细菌的鞭毛蛋白、病毒的 dsRNA 以及细菌、原生动物和病毒的非甲基化 DNA CpG 序列等,从而介导抗细菌、抗病毒的天然免疫反应,并增强获得性免疫产生。因此,这些病原相关分子模式的类似物就可以作为良好的免疫佐剂。目前,多种针对 TLRs 的疫苗佐剂被成功开发,如 CpG 佐剂(针对 TLR9)、MPL(针对 TLR4)、R837(针对 TLR7)等。将 MPL 和 R837 联合使用可以显著提高高致病性禽流感病毒 H5N1 HA 蛋白纳米颗粒疫苗的免疫效果<sup>[35]</sup>。此外,表达沙门菌鞭毛蛋白(Flagellin)的重组狂犬病病毒疫苗能够有效刺激 TLR5 信号通路,激活树突状细胞和 B 细胞,促进体液免疫的发生,显著提高口服疫苗的免疫效果<sup>[36]</sup>,为彻底解决流浪犬的免疫问题提供了契机。除此之外,利用其它天然免疫分子,包括 RIG-

I、MyD88、IPS-1 等增强疫苗免疫效果的研究也有报道<sup>[37]</sup>。可以说,对天然免疫的深入研究,为疫苗佐剂与免疫增强剂的开发打开了一扇新的大门,具有广阔的前景。

基于天然免疫的炎症干预。如前所述,过度的炎症反应是高致病性禽流感病毒等病原导致患者或动物死亡的主要原因。如果能对过度的炎症反应进行成功地干预,有望降低发病率和死亡率。在流感病毒的感染过程中,TLR4 依赖的炎症通路是引起“炎症因子风暴”的重要途径,造成严重的肺部损伤。用针对 TLR4 的抑制剂艾瑞陶脲(Eritoran)处理流感病毒感染的小鼠,可以消除 TLR4 介导的“炎症因子风暴”,显著降低流感病毒引起的肺部损伤、临床症状和死亡率<sup>[38]</sup>。猪链球菌是严重危害养猪业和人类健康的重要人畜共患病的病原菌。链球菌感染细胞后的转录组学研究表明,多种炎症因子通路显著活化,包括 TREM1 炎症信号。利用针对 TREM1 信号通路的抑制剂——重组 TREM1 胞外域,可以显著降低炎症反应、减轻症状、降低死亡率。

利用天然免疫进行抗病育种。不同物种对同一种病原具有不同的易感性,这种易感性的差异可能与天然免疫介导的抗病作用有关。RIG-I 是一种介导干扰素产生的重要模式识别受体。研究发现,鸭拥有完整和起作用的 RIG-I,在 A 型流感病毒感染的时候激活。相比之下,鸡缺乏 RIG-I。将鸭的 RIG-I 转入鸡胚成纤维细胞可以抑制高致病性禽流感病毒的复制<sup>[39]</sup>。基于这一发现,国际上多个研究机构正在培育表达鸭 RIG-I 的转基因鸡,这种转基因鸡有望具备天然抵抗高致病性禽流感病毒的能力。另外,猪的模式识别受体 TLR4 基因中存在 4 个单核苷酸多态性位点(SNP),其中 C1027A 等位基因极可能是猪抗肺炎支原体感染的优势基因<sup>[40]</sup>。该易感位点的发掘为培育抗猪肺炎支原体的猪提供依据了理论依据,促进了抗病畜禽新品种的培育。

国际上利用天然免疫创新动物疫病防控研究尚处于起步阶段,我国学者在这方面进行了有益的探索,已经取得了一些有意义的成果,如研制成功猪伪狂犬病毒基因工程疫苗、狂犬病治疗性疫苗,发现鸭的 RIG-I 基因、与猪肺炎支原体易感性有关的猪 TLR4 基因多态性等。相信随着对动物天然免疫研究的进一步深入,会有越来越多的天然免疫相关基因得以发掘和利用,为动物疫病的防控提供新理论、新技术、新方法、新产品。

## 2 关键科学问题

本次“双清论坛”紧紧围绕国家重大需求和科学前沿,深入分析了国际动物疫病免疫调控研究领域的新进展、新特点和新趋势,结合我国在该领域的研究现状和水平,对今后的发展方向和重点进行了研讨。为了促进我国动物疫病免疫调控研究领域的发展,未来应着重研究的关键科学问题如下:

(1) 养殖动物天然免疫的细胞与分子机制。包括养殖动物天然免疫对病原的识别机制与信号转导途径;养殖动物天然免疫对病原的调节机制;养殖动物天然免疫抵抗病原的细胞机制。

(2) 动物病原的免疫逃逸与免疫抑制机制。包括病原逃逸宿主免疫识别的机制;病原阻断宿主免疫信号转导的机制;病原干扰或抑制免疫效应的机制。

(3) 病原感染致炎机制与免疫调控。包括病原诱导炎症反应的细胞和分子机制;炎症反应在病原感染与致病中的作用;病原感染致炎的免疫调控网络。

(4) 免疫压力下病原变异的机制。包括免疫压力下的病原变异与毒力增强的分子机制;病原变异对宿主免疫系统的影响;病原与宿主免疫系统的适应性进化。

(5) 养殖动物免疫系统的发育、结构与功能。包括养殖动物免疫系统的组成、结构与功能研究;养殖动物特征性免疫分子的克隆、鉴定与功能研究;养殖动物特征性免疫细胞分离、培养体系建立及功能研究。

(6) 重要病原感染的特异性免疫应答的细胞与分子机制。包括病原感染后特异性免疫应答形成与维持的分子机制;特异性免疫效应因子的生物学功能及其免疫学作用机制;病原有效免疫保护组分(抗原)的挖掘。

(7) 病原共感染对宿主免疫功能的影响机制。包括病原共感染与协同致病的机制;共感染对宿主天然免疫调控的影响及其作用机制;共感染对宿主获得性免疫应答的影响及其作用机制。

## 参 考 文 献

- [1] Tian K, Yu X, Zhao T, et al. Emergence of fatal PRRSV variants; unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark. *PLoS One*, 2007, 2(6):e526.
- [2] Li W, Li H, Liu Y, et al. New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(8):1350—1353.
- [3] An TQ, Peng JM, Tian ZJ, et al. Pseudorabies virus variant in Bartha-K61-vaccinated pigs, China, 2012. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(11):1749—1755.
- [4] 曹雪涛. 免疫学前沿进展. 北京:人民卫生出版社. 2009.
- [5] de Miranda Santos IK, Lunney JK, Ferreira BR. Highlights of the 8th International Veterinary Immunology Symposium. *Vet Immunol Immunopathol*, 2009, 128(1—3):1—6.
- [6] Turin L, Riva F. Toll-like receptor family in domestic animal species. *Crit Rev Immunol*, 2008, 28(6):513—38.
- [7] Loker ES, Adema CM, Zhang SM, et al. Invertebrate immune systems—not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunol Rev*, 2004, 198(1):10—24.
- [8] 舒红兵. 抗病毒天然免疫. 北京:科学出版社. 2009.
- [9] Cullen TW, Giles DK, Wolf LN, et al. *Helicobacter pylori* versus the host: remodeling of the bacterial outer membrane is required for survival in the gastric mucosa. *PLoS Pathog*, 2011, 7(12):e1002454.
- [10] Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(8):551—565.
- [11] Engel DA. The influenza virus NS1 protein as a therapeutic target. *Antiviral Res*, 2013, 99(3):409—416.
- [12] Cirl C, Wieser A, Yadav M, et al. Subversion of Toll-like receptor signaling by a unique family of bacterial Toll/interleukin-1 receptor domain-containing proteins. *Nat Med*, 2008, 14(4):399—406.
- [13] Wang D, Fang L, Li K, et al. Foot-and-mouth disease virus 3C protease cleaves NEMO to impair innate immune signaling. *J Virol*, 2012, 86(17):9311—9322.
- [14] Wang D, Fang L, Li P, et al. The leader proteinase of foot-and-mouth disease virus negatively regulates the type I interferon pathway by acting as a viral deubiquitinase. *J Virol*, 2011, 85(8):3758—3766.
- [15] Sagong M, Lee C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus nucleocapsid protein modulates interferon- $\beta$  production by inhibiting IRF3 activation in immortalized porcine alveolar macrophages. *Arch Virol*, 2011, 156(12):2187—2195.
- [16] Huang Y, Li Y, Burt DW, et al. The duck genome and transcriptome provide insight into an avian influenza virus reservoir species. *Nat Genet*, 2013, 45(7):776—783.
- [17] Chang MX, Zou J, Nie P, et al. Intracellular interferons in fish: a unique means to combat viral infection. *PLoS Pathog*, 2013, 9(11):e1003736.
- [18] Li D, Dong H, Li S, et al. Hemoglobin subunit beta interacts with the capsid protein and antagonizes the growth of classical swine fever virus. *J Virol*, 2013, 87(10):5707—5717.
- [19] Luo R, Xiao S, Jiang Y, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) suppresses interferon-beta production by interfering with the RIG-I signaling pathway. *Mol Immunol*, 2008, 45(10):2839—2846.
- [20] Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, et al. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2012, 76(1):16—32.
- [21] Okumura A, Pitha PM, Yoshimura A, et al. Interaction between Ebola virus glycoprotein and host toll-like receptor 4 leads to induction of proinflammatory cytokines and SOCS1. *J Virol*, 2010, 84(1):27—33.
- [22] Rallabhandi P, Phillips RL, Boukhvalova MS, et al. Respiratory syncytial virus fusion protein-induced toll-like receptor 4 (TLR4) signaling is inhibited by the TLR4 antagonists *Rhodobacter sphaeroides* lipopolysaccharide and eritoran (E5564) and requires direct interaction with MD-2. *MBio*, 2012, 3(4):e00218—12.

- [23] Sabbah A, Chang TH, Harnack R, et al. Activation of innate immune antiviral responses by Nod2. *Nat Immunol*, 2009, 10(10):1073—1080.
- [24] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*, 2002, 10(2):417—426.
- [25] Lamkanfi M, Dixit VM. Modulation of inflammasome pathways by bacterial and viral pathogens. *J Immunol*, 2011, 187(2):597—602.
- [26] Davis BK, Wen H, Ting JP. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29:707—735.
- [27] Rebane A, Akdis CA. MicroRNAs, Essential players in the regulation of inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013, 132(1):15—26.
- [28] Bi J, Song S, Fang L, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces IL-1 $\beta$  production depending on TLR4/MyD88 pathway and NLRP3 inflammasome in primary porcine alveolar macrophages. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: e403515.
- [29] Jing H, Fang L, Wang D, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection activates NOD2-RIP2 signal pathway in MARC-145 cells. *Virology*, 2014, 458-459:162—171.
- [30] Wang D, Cao L, Xu Z, et al. MiR-125b reduces porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication by negatively regulating the NF- $\kappa$ B pathway. *PLoS One*, 2013, 8(2):e55838.
- [31] Li K, Foy E, Ferreon JC, Nakamura M, et al. Immune evasion by hepatitis C virus NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(8):2992—2997.
- [32] Romano KP, Ali A, Aydin C, et al. The molecular basis of drug resistance against hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitors. *PLoS Pathog*, 2012, 8(7):e1002832.
- [33] Liu J, Chen P, Jiang Y, et al. A duck enteritis virus-vectored bivalent live vaccine provides fast and complete protection against H5N1 avian influenza virus infection in ducks. *J Virol*, 2011, 85(21):10989—10998.
- [34] Wen Y, Wang H, Wu H, et al. Rabies virus expressing dendritic cell-activating molecules enhances the innate and adaptive immune response to vaccination. *J Virol*, 2011, 85(4):1634—1644.
- [35] Kasturi SP, Skountzou I, Albrecht RA, et al. Programming the magnitude and persistence of antibody responses with innate immunity. *Nature*, 2011, 470(7335):543—547.
- [36] Zhou M, Zhang G, Ren G, et al. Recombinant rabies viruses expressing GM-CSF or flagellin are effective vaccines for both intramuscular and oral immunizations. *PLoS One*, 2013, 8(5):e63384.
- [37] Mount A, Koernig S, Silva A, et al. Combination of adjuvants: the future of vaccine design. *Expert Rev Vaccines*, 2013, 12(7):733—746.
- [38] Shirey KA, Lai W, Scott AJ, et al. The TLR4 antagonist Eritoran protects mice from lethal influenza infection. *Nature*, 2013, 497(7450):498—502.
- [39] Barber MR, Aldridge JR Jr, Webster RG, et al. Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(13):5913—5918.
- [40] Fang X, Liu X, Meng C, et al. Breed-linked polymorphisms of porcine toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 and the primary investigation on their relationship with prevention against *Mycoplasma pneumoniae* and bacterial LPS challenge. *Immunogenetics*, 2013, 65(11):829—834.

## Immune Modulation of Animal Infectious Diseases —Summary of the 103rd Shuangqing Forum

Hu Jingjie<sup>1</sup> Guo Xin<sup>1</sup> Xiao Shaobo<sup>2</sup> Meng Qingfeng<sup>1</sup> Du Shengming<sup>1</sup>

1. National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085; 2. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070

**Abstract** The control and prevention of important animal infectious diseases is facing an unprecedented challenge. This is primarily due to the complexity of animal infectious diseases driven by climate and ecological changes, immune selection pressure as well as changes in the animal husbandry practice. Therefore, immune modulation is not only becoming a priority research focus but also a bottleneck and a short board of a bucket. In October 16—17, 2013, the Department of Life Sciences, the Department of Chemistry and Policy bureau of the Natural Science Foundation of China jointly held the 103rd “Shuang Qing Forum” with a primary focus on Immune Modulation of Animal Infectious Diseases. More than 30 experts from 26 national institutions attended the forum. The current status on the immune modulation of animal infectious diseases, future research directions, and potential challenges are discussed in depth at the forum. Suggestions on the priority research areas of scientific funding, the fundamental and key scientific questions that need to be urgently addressed, and future research directions are proposed for future policy making.

**Key words** Animal; Infectious diseases; Immune modulation