

DOI:10.13350/j.cjpb.230623

· 综述 ·

重组马立克氏病病毒疫苗的研制现状*

李文桂**,陈雅棠

(重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所,重庆 400016)

【摘要】 马立克氏病病毒(Marek's disease virus, MDV)所致的马立克氏病是一种接触性及高度传染的鸡淋巴细胞增生病,临床以内脏淋巴瘤和神经损伤为特征,常接种 CV1988/Rispens, SB1, 301B/1 和 HVT-FC126 等减毒或无毒疫苗株进行防治。这些疫苗株可诱导宿主产生细胞、体液和粘膜免疫应答,是一种理想的疫苗载体,可表达病毒和细菌的多种蛋白。这些疫苗包括禽流感病毒(rMDV-M2/HA/NA)、新城疫病毒(rMDV-F)、传染性法氏囊病毒(rMDV-VP2)、网状内皮增生病毒(rMDV-LTR/env/GP90)、禽白血病病毒 J 亚型(rMDV-env/gag)、传染性支气管炎病毒(rMDV-S1)、传染性喉气管炎病毒(rMDV-gB/gJ)、火鸡疱疹病毒(rMDV-gB)、大肠埃希菌(rMDV-LacZ)和 rMDV-IL-15 等,本文综述以 MDV 为载体的病原体疫苗的研制现状。

【关键词】 马立克氏病病毒;疫苗;综述

【中图分类号】 R852.65;R392.11

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)06-0734-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jun;18(6):734-737,741.]

The status in the research of recombinant Marek's disease virus vaccine

LI Wengui, CHEN Yatang (Institute of Infectious and Parasitic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Marek's disease virus (MDV) is one type of etiologic agents causing contagious, infectious lymphocytosis in avians, its clinical characteristic includes visceral lymphoma and neurotmesis, it may be controlled by immunoprophylaxis with attenuated CV1988/Rispens, SB1, 301B/1, and HVT-FC126 strains, those strains may induce the avians to produce cellular, humoral and mucosal immune responses, it may become ideal vaccine vector for expressing many proteins of viruses and bacteria. These vaccines include Avian influenza virus(rMDV-M2/HA/NA), Newcastle disease virus(rMDV-F), Infectious bursal disease virus (rMDV-VP2), Reticuloendotheliosis virus (rMDV-LTR/env/GP90), Avian leukosis virus subgroup J(rMDV-env/gag), Infectious bronchitis virus(rMDV-S1), Infectious laryngotracheitis virus(rMDV-gB/gJ), Herpesvirus of turkey(rMDV-gB), *Escherichia coli*(rMDV-LacZ), and rMDV-IL-15. The review outlines the status in the research of recombinant MDV vaccine.

【Key words】 Marek's disease virus; vaccine; review

***马立克氏病病毒(Marek's disease virus, MDV)所致的马立克氏病是一种接触性及高度传染的鸡淋巴细胞增生病,临床以内脏淋巴瘤和神经损伤为特征,常接种 CV1988/Rispens, SB1, 301B/1 和 HVT-FC126 等减毒或无毒疫苗株进行防治。MDV 的基因组大小约为 175 kb 左右,含有长短 2 个独特区,可以编码 80 多种蛋白。通常借助细菌人工染色体、多位点变异、基因重排或删除等技术使 MDV 减毒,从而成为有希望的疫苗载体^[1-5]。pMDV-GFP 和 pMDV-EGFP 等重组质粒可呈现绿色荧光蛋白(GFP)或增强型绿色荧光蛋白(EGFP),这为挑选重组 MDV 疫苗带来了便利^[6-7]。

大量重组 MDV 疫苗相继已被构建,包括禽流感病毒(rMDV-M2/HA/NA)、新城疫病毒(rMDV-F)、传染性法氏囊病毒(rMDV-VP2)、网状内皮增生病毒(rMDV-LTR/env/GP90)、禽白血病病毒 J 亚型(rMDV-env/gag)、传染性支气管炎病毒(rMDV-S1)、传染性喉气管炎病毒(rMDV-gB/gJ)、火鸡疱疹病毒(rMDV-gB)、大肠埃希菌(rMDV-LacZ)和 rMDV-IL-15 等,本文综述以 MDV 为载体的病原体疫苗的研制现状。

1 重组 MDV 抗病毒

1.1 禽流感病毒 禽流感病毒(AIV)严重威胁养禽业,可波及人类,常导致呼吸道感染。血凝素(hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA 和基质蛋白 2(Matrix protein 2, M2)是 AIV 表面的 3 种主要蛋白。HA 主要吸附于宿主细胞表面的唾液酸受体,促进 AIV 感染细胞,NA 在 AIV 包装完成后促进病毒从感染细胞释放, M2 是 1 种离子通道,促进 AIV 病毒 RNP 进入宿主细胞。将这些重组蛋白或核酸疫苗免疫禽类可产生高水平的中和性抗体^[8-12]。李永清等^[13]将 pGEM-M2 与 pIRES-EGFP 重组得 pEGFP-M2,与 pUS2 重组得 pUS2-M2,加 CV1988/Rispens 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选培养后经免疫印渍提示阳性血清中和重组病毒表达的 9 ku 的 M2 蛋白。采用皮下注射将 10³ PFU 重组病毒接种 1d

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 30801052, 30671835, 30500423, 30200239)。

** **【通讯作者(简介)】** 李文桂(1967-),男,湖北郧县人,博士,研究员,主要从事病原微生物的分子生物学和分子免疫学研究。E-mail: cqliwengui@163.com

龄的仔鸡,在接种后 21 d 发现血清 IgG 滴度增加,可达 1 : 580;此时将 10^8 EID₅₀ 禽流感病毒 H9N2 株进行皮下注射攻击,在攻击感染后 5 d 显现血清、咽拭子和泄殖腔拭子的病毒负荷下降 10^5 倍。随后,郇晓琼等^[14-17]以类似技术构建了重组 MDV-HA/NA 疫苗,将其肌肉注射仔鸡可对抗 H5N1 株的滴鼻攻击,产生 80% 的保护力,提示该疫苗可产生较好的保护效果。

1.2 新城疫病毒 新城疫病毒(NDV)可导致禽类的新城疫。融合蛋白(fusion protein, F)是一种诱导禽类产生中和抗体的保护性抗原^[18-19]。闫帅等^[20]以新城疫病毒的 RNA 为模板扩增 1.6 kb 的 F 基因,插入 pUAB-gpt 得 pUAB-F,加 MDV914 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后经 Southern 杂交提示 F 基因插入重组病毒的基因组中。孙鹏等^[21-22]筛选了重组 MDV-F 疫苗,但未进行接种禽类的免疫实验。Okamura 等^[23]将 5×10^3 PFU 重组病毒皮下注射 1 d 龄的仔鸡,在注射后 2 周显示血清 IgG 提升,在注射后 2~14 周取羽毛进行病毒 PCR 检测发现羽毛不存在病毒的污染和扩散。

1.3 传染性法氏囊病病毒 传染性法氏囊病(IBDV)可引起禽类的法氏囊病。VP2 是一种诱导禽类产生中和抗体的结构蛋白^[24-25]。Tsukamoto 等^[26]以该病毒的 RNA 为模板扩增 VP2 基因,插入 pSVB 得 pSV-VP2,与 pUS2 重组得 pUS2-VP2,加 MDV Δ meq CV1988 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后经免疫印渍提示阳性血清中和重组病毒呈现的 42 ku 的 VP2 蛋白。通过皮下注射将 10^4 PFU 重组病毒免疫 1 d 龄的仔鸡,在免疫后 42 d 发现血清 IgG 滴度增加;此时皮下注射 10^5 EID₅₀ IBDV 有毒株进行攻击,在攻击感染后 7 d 观察病变,统计保护力,显示免疫组和对照组的保护力各为 55% (11/20)和 0(0/20)。周雪媚等^[27]等再次重复了该疫苗的免疫和攻击实验,但仅获得 50% 的保护效果,提示该疫苗的接种方案需要优化。Li 等^[28]同理得到重组 MDV-VP2 疫苗,将其皮下注射仔鸡可完全对抗 IBDV HLJ0504 株的皮下注射攻击。

1.4 网状内皮增生病病毒 网状内皮增生病病毒(Reticuloendotheliosis virus, REV)是一种免疫抑制性和致瘤性的逆转录病毒,引起的禽类网状内皮增生病是以急性网状细胞肿瘤、短小综合征或淋巴组织慢性肿瘤等为特征。REV 的长末端序列(long terminal repeat, LTR)是一种强启动子或增强子,根据插入的位置可以反式激活不同的基因。当 LTR 插入 MDV 的基因组可降低该病毒的致病性,但增加病毒的复制和水平传播能力。env 基因编码一种前体蛋白 GP160,经细胞水解后成为成熟的膜表面蛋白 GP120 和跨膜蛋白 GP41。GP90 基因编码 GP90 蛋白,这些蛋白具有诱导禽类产生中和抗体的抗原表位^[29-33]。Mays 等^[34-35]等以该病毒的 DNA 为模板扩增 LTR 基因,插入 pMDV 得 pMDV-LTR,加 CV1988 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后经 PCR 发现从重组病毒抽提的 DNA 可扩增出 210 bp 的 LTR 基因。分别通过卵内注射 18 d 胚胎和皮下注射 2×10^3 PFU 重组病毒接种 20 d 龄的仔鸡,在接种后 5 d 将 500 PFU 的 MDV686 有毒株对仔鸡进行腹腔注射攻击,在攻击感染后 8 周观察病变,统计保护力,显现卵内注射组、皮下注射组和对照组的保护力各为 100% (36/36)、100% (34/34)和 0(0/37)。随后的疫苗腹腔接

种途径可诱导 96% 的保护力。Lupiani 等^[36-38]等进一步证实重组 MDV-VP2 疫苗接种仔鸡可有效抵抗 MDV648A 或 Md5 株的腹腔注射攻击,表明该疫苗可产生较好的免疫效率。

周忠文等^[39]等以该病毒 SNV 株的 DNA 为模板扩增 1 782 bp 的 env 基因,插入 pCDNA3.1 得 pCD-env,与 pUC-Kan 重组得 pUC-Kan-env,加 SC9-1 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后经 Western 荧光证明重组病毒表达融合蛋白的分子。采用腹腔注射将 2×10^3 PFU 重组病毒接种 1 d 龄的仔鸡,在接种后 5 d 将 1×10^3 PFU 的 GX0101 株进行腹腔注射攻击,在注射后 90 d 观察病变,统计保护力,发现免疫组和对照组的保护力各为 92% (23/25)和 8% (2/25)。许曾琨等^[40]等以类似路线构建了重组 MDV-gp90 疫苗,但未进行接种禽类的试验。

1.5 禽白血病病毒 J 亚型 禽白血病病毒 J 亚型(Avian leukosis virus subgroup J, ALV-J)是禽类血管瘤和骨髓细胞瘤的病原体,将 env 和 gag 基因编码的蛋白或表位疫苗免疫禽类可抵抗 ALV-J 的攻击^[41-42]。Liu 等^[43]等以该病毒 TL0931 株的 DNA 为模板扩增 env/gag 基因,将它们融合后插入 pCAGGS 得 pCAGGS-env-gag,与 pMDV814 重组得 pMDV814-env-gag,应用 BAC 修饰试剂盒选择 BAC-MDV814-env-gag,加 SC9-1 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后采用 Southern 杂交提示 env/gag 基因插入重组病毒的基因组中。通过皮下注射将 5×10^3 PFU 重组病毒接种 45 d 龄的仔鸡,在接种后 28 d 提示血清 IgG 滴度增加,此时将 10^3 TCID₅₀ 的 ALV-J 有毒株进行腹腔注射攻击,在攻击感染后 45 d 观察病变,统计保护力,发现 MDV-env 免疫组、MDV-env-gag 免疫组以及对照组的保护力各为 73.3% (11/15)、67.7% (89/12)和 45.5% (4/9),提示重组 MDV-env 和重组 MDV-env-gag 具有相似的免疫效率。

1.6 传染性支气管炎病毒 传染性支气管炎病毒(IBV)可导致鸡传染性支气管炎。棘突蛋白(Spike protein, S)是一种糖蛋白,可分解为 S1 和 S2 亚单位,S1 亚单位含有诱导禽类产生保护性抗体的中和表位^[44-45]。Zhang 等^[46]等以 IBV 的 DNA 为模板扩增 S1 基因,插入 pUP/Down 得 pUP-S1-Down,与 pLTR-EGFP 重组得 pUP-LTR-EGFP-S1-Down,加 CV1988 株的 DNA 共同转染 CEF 细胞株,筛选和培养后采用 PCR 提示从重组病毒抽提的 DNA 可扩增出 1.7 kb 的 S1 基因。将 5×10^3 PFU 重组病毒皮下注射 1 d 龄的仔鸡,在注射后 4 周将 $2 \times 10^{3.5}$ EID₅₀ 的 IBV CK/CH/TS 株进行口鼻吸入攻击,在攻击感染后 12 d 提示肾组织的病变减轻,气管拭子的病毒负荷降低,在攻击感染后 6 周显示免疫组和对照组的存活率各为 70% (14/20)和 0(0/20)。

1.7 传染性喉气管炎病毒 传染性喉气管炎病毒(ILTV)可引起传染性喉气管炎。糖蛋白 B/J(glycoprotein B/J, gB/gJ)与病毒吸附和进入细胞有关,是一种保护性抗原^[47-48]。Gimeno 等^[49]等将 2×10^3 PFU 重组病毒 MDV-gB/gJ 皮下注射 1 d 龄的仔鸡,在注射后 4 周将 4×10^3 PFU 该病毒 Illinois-N7185 株进行气管内吸入攻击,在攻击后 1 周计数病变,计算保护力,发现 MDV-gB 免疫组、MDV-gJ 免疫组、MDV-gB 和 MDV-gJ 混合免疫组以及对照组的保护力各为 57.8% (29/50)、44.4% (22/50)、68.9% (34/50)和 0(0/50),表明疫苗混合免疫的效果

优于单个接种。

1.8 火鸡疱疹病毒 火鸡疱疹病毒(HVT)是预防马立克氏病的常规异源疫苗。张雪莲等^[50]以 HVT 的 DNA 为模板扩增 gB 基因,插入 pCDNA3.1 得 pCD-gB,与 pBUS10 重组得 pBUS10-gB,加 CV1988 株的 DNA 共同转染 CEF 细胞株,筛选和培养后经 PCR 显示从重组病毒抽提的 DNA 可扩增出 750 bp 的 gB 基因。

2 重组 MDV 抗大肠埃希菌

大肠埃希菌(*Escherichia coli*)是细菌性腹泻的常见病原体之一。lac-Z 基因编码 115 Ku 的 β -糖苷酶(β -galactosidase, β -gal)。Sakaguchi 等^[51]以该菌的 DNA 为模板扩增 LacZ 基因,插入 pKA4 得 pKA4-LacZ,加 MDV814 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后采用 Southern blot 提示 LacZ 基因插入重组病毒的基因组中。通过皮下注射将 6×10^3 PFU 重组病毒免疫 1 d 龄的仔鸡,在免疫后 1 周显示血清 IgG 提升,此时,将 5×10^3 PFU 的 MDV Alabama 株进行腹腔注射攻击,在攻击后 10 周观察病变,统计保护力,显现免疫组和对照组的保护力各为 100%(10/10)和 0(0/10)。

3 重组 MDV 表达 IL-15

IL-15 主要参与 CD8⁺ 和 NK 细胞的增殖、分化和激活,维持长效记忆性 CD8⁺ T 细胞,可作为细胞因子佐剂^[52-53]。Kim 等^[54]等将 IL-15 基因插入 pCDNA3.1 得 pCD-IL-15,与 p301B/1 重组得 p301B/1-IL-15,加 MDV301B/1 株的 DNA 共同转化 CEF 细胞株,筛选和培养后经 Western 免疫荧光证实重组病毒表达融合蛋白的分子。采用腹腔注射将 10^3 PFU 重组病毒接种 1 d 龄的仔鸡,在接种后 5 d 将 1×10^3 PFU 的 MDV595 株进行腹腔注射攻击,在攻击感染后 53 d 观察病变,统计保护力,发现免疫组和对照组的保护力各为 92.3%(14/15)和 13.3%(2/15)。

4 结语

重组 MDV 疫苗具有下述优点:载体容量大,插入位点多,可插入多个外源基因;自然宿主只有禽类,不感染人和其他动物,使用安全;是一种细胞结合性疱疹病毒,病毒接种禽类后可持续感染,终生带毒,刺激禽类产生持久的免疫力;病毒在细胞间传播,可不受母源抗体的干扰;生产成本低,可长期储存和运输;可以进行卵内或孵化时接种。

重组 MDV 疫苗存在下述不足:可能含有人单纯疱疹病毒 1 型和带状疱疹病毒的核苷酸还原酶小亚单位和 US7 基因的同源序列,存在生物安全隐患;病毒载体产生的抗体干扰疫情的监测;表达载体缺乏高效启动子或增强子,导致表达效率较低。

部分重组 MDV 疫苗只是初步进行了疫苗的构建和鉴定工作,部分疫苗进行了攻击试验,诱导的保护力各有不同,可能需要优化疫苗接种的剂量、途径、次数以及间隔时间,也需探索这些疫苗能否对抗不同株的攻击,是否产生交叉保护效果。随着现代生物技术的发展,将对病毒和细菌蛋白的基因组学、蛋白质组学、代谢组学、转录组学以及表观遗传学等进行深入的探索,从而阐明这些蛋白的抗原结构与功能的关系,筛选新的抗原分子,为构建由各期抗原分子组成的多期多价疫苗研制提供理论基础。

【参考文献】

- [1] Parcels MS, Anderson AS, Cantello JL, et al. Characterization of *Marik's disease virus* insertion and deletion mutants that lack US1, US10 and/or US2 and neighboring short-component open reading frames[J]. J Virol, 1994, 68(29): 8239-8253.
- [2] Schumacher D, Tischer BK, Fuchs W, et al. Recombinant of *Marik's disease virus* serotype 1(MDV-1) from DNA clonal as a glycoprotein B-negative MDV-1 mutant [J]. J Virol, 2000, 74(23): 11088-11098.
- [3] Cai XP, Lee LF, Henry HD, et al. A *Marik's disease virus* vIL-8 deletion mutant has attenuated virulence and confers protection against challenge with a very virulent plus strain[J]. Avian Dis, 2005, 49(2): 199-206.
- [4] Silva RF, Dunn JR, Cheng HH, et al. A MEQ-deleted *Marik's disease virus* cloned as a bacterial artificial chromosome is a highly efficacious vaccine[J]. Avian Dis, 2010, 54(2): 862-869.
- [5] Li YP, Sun AJ, Su S, et al. Deletion of the meq gene significantly decreases immunosuppression in chickens caused by pathogenic *Marik's disease virus*[J]. Virol, 2011(8): 2.
- [6] 张雪莲, 范伟兴, 周玉传, 等. 表达绿色荧光蛋白的重组 CV1988 病毒的构建及特性分析[J]. 中国病毒学, 2003, 18(5): 468-472.
- [7] 刘召明, 张丽萍, 王秀丽, 等. 重组马立克氏病病毒通用转移载体的构建及初步应用[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(1): 26-28.
- [8] Johansson BE, Bucher DJ, Kilbourne ED. Purified *Influenza virus* hemagglutinin and neuraminidase are equivalent in stimulation of antibody response but induce contrasting types of immunity to infection[J]. J Virol, 1989, 63(3): 1239-1246.
- [9] Robinson HL, Hunt LA, Webster RG. Protection against a lethal *Influenza virus* challenge by immunization with a haemagglutinin-expressing plasmid DNA [J]. Vaccine, 1993, 11(9): 957-960.
- [10] Kodihall S, Kobasa DL, Webster RG. Strategies for inducing protection against avian *Influenza A* virus subtypes with DNA vaccines[J]. Vaccine, 2000, 18(23): 2592-2599.
- [11] Tompkins SM, Zhao ZS, Lo CY, et al. Matrix protein 2 vaccination and protection against *Influenza viruses*, including subtype H5N1[J]. Emerg Infect Dis, 2007, 13(3): 426-435.
- [12] Crevar CJ, Carter DM, Lee KY, et al. COBRA HA vaccines elicit protective antibodies against H5N1 viruses from multiple clade [J]. Hum Vac Immunother, 2015, 11(3): 572-583.
- [13] 李永清, 杨敬, 罗长保, 等. 表达禽流感病毒 M2 基因的重组马立克氏病病毒的构建[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 29(9): 24-30.
- [14] 郇晓琼, 吴艳涛, 徐晓静, 等. 表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因的重组马立克氏病病毒的构建[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(10): 1264-1268.
- [15] Cui HY, Gao HB, Cui XL, et al. Avirulent *Marek's disease virus* type 1 strain 814 vectored vaccine expressing *Avian influenza (AI) virus* H5 haemagglutinin induced better protection than *Turkey herpesvirus* vectored AI vaccine [J]. PLoS One, 2013(8): e53340.
- [16] Zhang ZJ, Chen WQ, Ma CT, et al. Construction of recombinant *Marek's disease virus* (MDV) lacking the meq oncogene and co-expressing AIV-H9N2 HA and NA genes

- under control of exogenous promoters[J]. J Biotech, 2014, 181(1):45-54.
- [17] Bertran K, Kassa A, Criado MF, et al. Efficacy of recombinant *Marek's disease virus* vectored vaccines with computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) hemagglutinin insert against genetically diverse H5 *High pathogenicity avian influenza viruses* [J]. Vaccine, 2021, 39(12):1933-1942.
- [18] Umino Y, Kohama T, Sato T, et al. Protective effect of monoclonal antibodies to *Newcastle disease virus* in passive immunization [J]. J Gen Virol, 1990, 71(6):1199-1203.
- [19] Kim SH, Subbiah M, Samuel AS, et al. Roles of the fusion and hemagglutinin-neuraminidase proteins in replication, tropism, and pathogenicity of *avian paramyxoviruses* [J]. J Virol, 2011, 85(17):8582-8596.
- [20] 闫帅, 崔红玉, 李巧珍, 等. 表达新城疫病毒 F 蛋白的重组马立克氏病病毒的构建及其鉴定 [J]. 中国预防兽医学报, 2012, 34(6):423-427.
- [21] 孙鹏, 李思菲, 孙芙寿, 等. 表达 NDF-F 基因重组马立克氏病病毒的构建及其在鸡体内外的复制 [J]. 病毒学报, 2015, 31(4):341-347.
- [22] Zhang ZJ, Ma CT, Zhao PF, et al. Construction of recombinant *Marek's disease virus* (rMDV) co-expressing AIV-H9N2-NA and NDF-F genes under control of MDV's own bi-directional promoter [J]. Vaccine, 2014, 9:e90677.
- [23] Okamura H, Sakaguchi M, Yokogawa K, et al. Lack of contact transmission of recombinant *Marek's disease virus* type 1 expressing the fusion of *Newcastle disease virus* [J]. Vaccine, 2002, 20(3):483-489.
- [24] Fahey KJ, Erny K, Crooks J. A conformational immunogen on VP2 of *Infectious bursal disease virus* that induces virus-neutralizing antibodies that passively protect chickens [J]. J gen virol, 1989, 70(6):1473-1481.
- [25] Azad AA, Mckern NM, Macreadie IG, et al. Physicochemical and immunological characterization of recombinant host-protective antigen (VP2) of *Infectious bursal disease virus* [J]. Vaccine, 1991, 9(5):715-722.
- [26] Tsukamoto K, Kojima C, Komori Y, et al. Protection of chickens against very virulent *infectious bursal disease virus* (IBDV) and *marek's disease virus* (MDV) with a recombinant MDV expressing IBDV VP2 [J]. Virol, 1999, 257(2):352-362.
- [27] 周雪媚, 李永清, 余税平, 等. 表达传染性法氏囊 VP2 基因的重组马立克氏病病毒对 SPF 鸡和商品鸡的免疫保护作用 [J]. 中国预防兽医学报, 2007, 29(10):791-795.
- [28] Li K, Liu YZ, Liu CJ, et al. Recombinant *Marek's disease virus* type 1 provides full protection against very virulent *Marek's*, and *infectious bursal disease viruses* in chickens [J]. Sci Rep, 2016(6):39263.
- [29] Jones D, Brunovskis P, Witter R, et al. Retroviral insertional activation in a *Herpesvirus*; transcriptional activation of Us genes by an integrated long terminal repeat in a *Marek's disease virus* clone [J]. J Virol, 1996, 70(9):2460-2467.
- [30] Sun AJ, Xu XY, Petherbridge L, et al. Functional evaluation of the role of *Reticuloendotheliosis virus* long terminal repeat (LTR) integrated into the genome of a field strain of *Marek's disease virus* [J]. Virol, 2010, 397(2):270-276.
- [31] Cui Z, Zhuang G, Xu X, et al. Molecular biological characterization of a *Marek's disease virus* field strain with *Reticuloendotheliosis virus* LTR insert [J]. Virus genes, 2010, 40(1):236-243.
- [32] Li K, Cao HL, Gao L, et al. Recombinant gp90 protein expressed in *Pichia pastoris* induces a protective immune response against *Reticuloendotheliosis virus* in chickens [J]. Vaccine, 2012, 30(13):2273-2281.
- [33] Li K, Gao L, Cao HL, et al. Protection of chickens against *Reticuloendotheliosis virus* infection by DNA vaccination [J]. Vet Microbiol, 2013, 166(1):59-67.
- [34] Mays JK, Silva RF, Kim T, et al. Insertion of *Reticuloendotheliosis virus* long terminal repeat into a bacterial artificial chromosome clone of a very virulent *Marek's disease virus* alters its pathogenicity [J]. Avian Pathol, 2012, 41(3):259-265.
- [35] Mays JK, Black-Pykosz A, Spatz S, et al. Protective efficacy of a recombinant bacterial artificial chromosome clone of a very virulent *marek's disease virus* containing a *Reticuloendotheliosis virus* long terminal repeat [J]. Avian Pathol, 2016(2016):119736.
- [36] Lupiani B, Lee LF, Kreager KS, et al. Insertion of *Reticuloendotheliosis virus* long terminal repeat into the genome of CV1988 strain of *Marek's disease virus* results in enhanced growth and protection [J]. Avian Dis, 2013, 57(2):427-431.
- [37] Su S, Cui N, Zhou Y, et al. A recombinant field strain of *marek's disease* (MD) *virus* with *Reticuloendotheliosis virus* long terminal repeat insert lacking the meq gene as a vaccine against MD [J]. Vaccine, 2015, 33(4):596-603.
- [38] Song CP, Yang Y, Hu J, et al. Safety and efficacy evaluation of recombinant *marek's disease virus* with REV-LTR [J]. Vaccines, 2020(8):399.
- [39] 周忠文, 林桂芳, 王好好, 等. 表达禽网状内皮组织增生病病毒 env 基因的重组马立克氏病病毒的生物学特性 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(7):1482-1491.
- [40] 许曾琨, 李凯, 刘永振, 等. 表达禽网状内皮组织增生病病毒 gp90 蛋白的重组马立克氏病病毒的构建及生物学特性分析 [J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(9):867-871.
- [41] Zhang L, Cai D, Zhao X, et al. Liposomes containing recombinant gp85 protein vaccine against ALV-J in chickens [J]. Vaccine, 2014, 32(16):2452-2456.
- [42] Xu Q, Ma X, Wang F, et al. Design and construction of a chimeric multi-epitope gene as an epitope-vaccine strategy against ALV-J [J]. Protein Expr Purif, 2015, 106(1):18-24.
- [43] Liu YZ, Li K, Cao YL, et al. Recombinant *Marek's disease virus* as a vectored-based vaccine against *Avian leukosis virus* subgroup J in chicken [J]. Viruses, 2016(8):301.
- [44] Ignjatovic J, Galli L. The S glycoprotein but not the N or M proteins of avian *Infectious bronchitis virus* induces protection in vaccinated chickens [J]. Arch Virol, 1994, 138(1-2):117-134.

- sensing to enhance enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence via distinctive rna control mechanisms[J]. Pro Nati Acad Sci USA, 2019, 116(28):14210-14215.
- [26] Hershko-shalev T, Odenheimer-bergman A, Elgrably-weiss M, et al. Gifsy-1 prophage isrk with dual function as small and messenger rna modulates vital bacterial machineries [J]. Plos Genetics, 2016, 12(4):e1005975.
- [27] Sy BM, Lan R, Tree JJ. Early Termination of the shiga toxin transcript generates a regulatory small rna[J]. Pro Nat Acad Scis, 2020, 117(40):25055-25065.
- [28] Xu X, Mcateer SP, Tree JJ, et al. Lysogeny with shiga toxin 2-encoding bacteriophages represses type iii secretion in enterohemorrhagic *Escherichia coli* [J]. Plos Pathogens, 2012, 8(5):e1002672.
- [29] Tree JJ, Granneman S, Mcateer SP, et al. Identification of bacteriophage-encoded Anti-srnas in Pathogenic *Escherichia coli* [J]. Molecular Cell, 2014, 55(2):199-213.
- [30] Sudo N, Soma A, Muto A, et al. A novel small regulatory RNA enhances cell motility in enterohemorrhagic *Escherichia coli* [J]. J Gen Appl Microbiol, 2014, 60(1):44-50.
- [31] Sudo N, Soma A, Iyoda S, et al. Small RNA Esr41 inversely regulates expression of LEE and flagellar genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* [J]. Microbiology, 2018, 164(5):821-834.
- [32] Waters SA, McAteer SP, et al. Small RNA interactome of pathogenic *E. coli* revealed through crosslinking of RNase E [J]. EMBO J, 2017, 36(3):374-387.
- [33] Hille F, Richter H, Wong SP, et al. The biology of crispr-cas: backward and forward [J]. Cell, 2018, 172(6):1239-1259.
- [34] Lin P, Pu Q, Wu Q, et al. High-throughput Screen reveals srnas regulating crna biogenesis by targeting crispr leader to repress rho termination [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):3728.
- [35] Elisabeth S, Nicolas G, Theresa S, et al. The small rna phrs stimulates synthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal [J]. Molr Microb, 2011, 80(4):868-885.
- 【收稿日期】 2022-12-16 【修回日期】 2023-03-02
-
- (上接 737 页)
- [45] Liu S, Chen J, Han Z, et al. *Infectious bronchitis virus*: S1 gene characteristics of vaccines used in China and efficacy of vaccination against heterologous strains from China [J]. Avian Pathol, 2006, 35(2):394-399.
- [46] Zhang XR, Wu YT, Huang YZ, et al. Protection conferred by a recombinant *marek's disease virus* that expresses the spike protein from *Infectious bronchitis virus* in specific pathogenic free chicken [J]. Virol J, 2012(9):85.
- [47] York JJ, Fahey KJ. Vaccination with affinity-purified glycoproteins protects chickens against *Infectious laryngotracheitis herpesvirus* [J]. Avian Pathol, 1991, 20(4):693-704.
- [48] Veits J, Kollner B, Teifke JP, et al. Isolation and characterization of monoclonal antibodies against structural proteins of *Infectious laryngotracheitis virus* [J]. Avian Dis, 2003, 47(2):330-342.
- [49] Gimeno IM, Cortes AL, Faiz NM, et al. Evaluation of the protection efficacy of a serotype 1 *marek's disease (MD) virus*-vectored bivalent vaccine against infectious laryngotracheitis and Marek's disease [J]. Avian Dis, 2015, 59(2):255-262.
- [50] 张雪莲, 范伟兴, 钱莺娟, 等. 含 HVT 部分 gB 基因马立克氏病病毒的转移载体的构建及表达 [J]. 中国病毒学, 2003, 18(2):104-107.
- [51] Sakaguchi M, Hirayama Y, Maeda H, et al. Construction of recombinant *marek's disease virus* type 1 (MDV1) expressing the *Escherichia coli* LacZ gene as a possible live vaccine vector; the US10 gene of MDV1 as a stable insertion site [J]. Vaccine, 1994, 12(10):953-957.
- [52] Perera PA, Lichy JH, Waldmann TA, et al. The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection; implications for its therapeutic use [J]. Microbes Infect, 2012, 14(2):247-261.
- [53] Tovey MG, Laffemand C. Adjuvant activity of cytokines [J]. Meth Mol Biol, 2010, 626(1):287-309.
- [54] Kim T, Hearn C. Vaccinal efficacy of recombinant *marek's disease* vaccine 301B/1 expressing chicken interleukin-15 [J]. Avian Dis, 2022, 66(1):79-84.
- 【收稿日期】 2022-12-23 【修回日期】 2023-03-12