

刘运超, 杨素珍, 尚延丽, 等. 伪狂犬病病毒研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (2): 124-130.

LIU Y C, YANG S Z, SHANG Y L, et al. Progress in research on pseudorabies virus [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (2): 124-130.

伪狂犬病病毒研究进展

刘运超, 杨素珍, 尚延丽, 郝慧芳

(河南省农业科学院动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘要: 伪狂犬病是由伪狂犬病病毒 (pesudorabies virus, PRV) 感染引起的一种严重的传染性病毒病, 主要引起猪的繁殖失败、生长停滞和呼吸系统障碍, 2 周龄以下仔猪死亡率高达 100%。伪狂犬病属于多种动物共患传染病, 主要经口、鼻感染, 通过在上呼吸道上皮细胞中的复制, 进一步感染神经系统和内脏器官。PRV 有 11 种糖蛋白分子, 在病毒的毒力、感染入侵和致病过程中发挥重要作用。临床上采用疫苗免疫和鉴别诊断相结合的方式对 PRV 的防控, 起到了一定的效果, 但是仍然给养猪业造成巨大损失。因此, 本文综述和讨论了猪伪狂犬病的临床症状以及病原的分子特征、致病机制和疫苗研究的最新进展, 以期为该病疫苗研究和诊断试剂开发提供参考。

关键词: 伪狂犬病病毒; 分子特征; 致病机制; 疫苗

中图分类号: S852.65 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)02-0124-07

Progress in research on pseudorabies virus

LIU Yunchao, YANG Suzhen, SHANG Yanli, HAO Huifang

(Henan Province Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Pseudorabies is a serious infectious viral disease caused by pseudorabies virus (PRV), which mainly causes reproductive failure, growth arrest and respiratory disorders in pigs. The mortality of inflicted piglets under 2 weeks old is as high as 100%. PRV infects through the mouth and nose, and further infects the nervous system and internal organs by replicating itself in the epithelial cells of the upper respiratory tract. PRV has 11 glycoprotein molecules, which play an important role in the viral virulence, infection, invasion and pathogenesis of the virus. In clinic practice, the combination of vaccine immunization and differential diagnosis is generally used to prevent and control PRV, which has achieved certain results, but the disease still causes huge losses to the pig industry. Therefore, this paper summarizes and discusses the latest progress in research on the virus in terms of clinical symptoms, molecular characteristics, pathogenic mechanism and vaccine development, in order to provide reference for PRV vaccine research and diagnostic reagent development.

Keywords: porcine pseudorabies virus; molecular characteristics; pathogenesis; vaccine

根据农业农村部 2022 年修订的《一、二、三类动物疫病病种名录》(第 573 号公告), 伪狂犬病 (pesudorabies) 被列为三类动物疫病, 属多种动物共患传染病。伪狂犬病是由伪狂犬病病毒 (pesudorabies virus, PRV) 感染引起的一种病毒性传染病, 最早发现于 1813 年的美国牛群中, 随后该病在全球范围内广泛传播^[1]。我国于 1947 年首次在猫体内发现 PRV, 随后陆续在牛、猪等家畜中发现该病毒。1980 年代初, PRV 已经蔓延至我国 18 个地区, 暴发 PRV

的猪场中新出生仔猪的发病率和死亡率达到 70%~100%。1979 年我国从匈牙利引进 gE 缺失疫苗株 Bartha-K61, 随着该疫苗的推广使用, 我国 PRV 流行在 80 年代末得到有效的控制。同时, 许多国家开始实施 PRV 清除计划, 到 2000 年前后, 全球主要生猪养殖国家如加拿大、美国、新西兰、荷兰、瑞典、法国和德国等已经实现了 PRV 在家养猪群的净化, 但是在欧洲东南部、拉丁美洲、非洲和亚洲等地区伪狂犬病仍然是危害养猪业的主要疫病^[2]。

2011 年我国出现了 PRV 变异株, 华北地区大部分猪场 PRV-gE 阳性率高于 50%, 部分地区甚至达到 90%, 部分育肥猪也出现了典型的神经症状甚至死亡^[3]。研究显示, 该 PRV 变异毒株在进化上属于基因 II 型, 而欧美等经典的 PRV 疫苗毒株属于基因 I 型, 二者之间存在着较大的遗传距离, 这可能是造

收稿日期: 2023-01-05; 修回日期: 2023-07-25

基金项目: 河南省重点研发与推广专项 (232102110080); 河南省农业科学院自主创新项目 (2023ZC085, 2023ZC088)

第一作者: 刘运超, 副研究员, 主要从事动物疫苗的研究, E-mail: yunchaoliu2012@163.com。

成 Bartha-K61 经典疫苗免疫保护力下降的主要原因^[4]。PRV 流行株糖蛋白 gB、gE 和 gI 等基因在野毒株和疫苗株之间的重组, 增强了变异毒株的毒力^[5]。临床上 PRV 经常与猪圆环病毒 2 型 (porcine circovirus 2, PCV2), 猪繁殖与呼吸综合征病毒 (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV) 和猪流行性腹泻病毒 (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) 等发生混合感染, 使得 PRV 防控更加困难^[6-7]。《农业农村部关于推进动物疫病净化工作的意见》(农牧发〔2021〕29号) 提出以“种畜场为重点, 扎实开展猪伪狂犬病等垂直传播性疫病净化”工作。本文从伪狂犬病临床特征出发, 对该病原的分子生物学特征、致病机制和疫苗的最新进展进行综述, 以期伪狂犬病的临床防控提供理论参考。

1 伪狂犬病的临床特征

猪是 PRV 的自然宿主, 但不同日龄和性别的猪感染 PRV 的临床症状存在差异, 母猪感染 PRV 出现流产、死胎或木乃伊胎; 种猪精液质量下降, 导致不育; 育肥猪出现呼吸系统障碍和体重增长停滞; 2 周龄以下仔猪的感染死亡率可达 100%^[8]。2011 年出现的 PRV 变异株的毒力显著增强, 母猪、哺乳仔猪、保育猪等受到感染时都出现典型的伪狂犬症状甚至死亡; 妊娠母猪主要表现为产死胎和流产; 断奶仔猪感染后出现长期的、难以根除的腹泻和神经症状。伪狂犬病是多种动物共患传染病, 除了猪, 还能感染牛、羊、马、兔、浣熊、犬、小鼠、豚鼠、狐狸等多种哺乳动物, 也可以感染一些灵长类动物如恒河猴、狨猴等^[9-10]。大多数被感染的动物在发病后 24~48 h 内死亡, 临床特征通常是头部和颈部出现严重瘙痒, 并伴有自残等精神症状。猪是 PRV 的主要储存宿主, 只有猪可以发生潜伏性感染。近年来, 不断有 PRV 感染人的报道, 2020 年, 中国科研人员首次从一名急性脑炎患者中分离出 PRV 毒株 (hSD-1/2019, GenBank 编号 MT468550), 这为人类感染 PRV 提供了直接证据^[11]。

2 PRV 分子生物学特征

2.1 PRV 分类与基因组结构

PRV 学名猪疱疹病毒 1 型 (*Suid herpesvirus 1*), 属于疱疹病毒科 (*Herpesviridae*) α -疱疹病毒亚科 (*Alphaherpesvirinae*), 水痘病毒属 (*Varicellovirus*), 目前仅存在一个血清型。PRV 是有囊膜的双链 DNA 病毒, 基因组约 142~145 kb, 具有长独特区域 (unique long, UL) 和短独特区域 (unique short,

US), 内部重复序列 (internal repeat sequence) 和末端重复序列 (terminal repeat sequence) 位于 US 的两端。PRV 基因组包含了 70 个以上的开放阅读框 (open reading frame, ORF), 可编码 70~100 种蛋白质。成熟的 PRV 粒子直径在 150~180 nm, 呈圆形或椭圆形结构, 由囊膜、二十面体的衣壳和衣壳内包裹的双链 DNA 组成^[12]。

成熟的 PRV 衣壳蛋白由 150 个六邻体蛋白和 12 个五邻体蛋白组装成 T=16 的二十面体晶格结构, 直径 125 nm。六邻体蛋白由 VP5 蛋白 (UL19) 和 VP26 蛋白 (UL35) 组成, 形成衣壳的各个面和条棱。十二面体的顶点中有 11 个五聚体的 VP5 蛋白组成, 而第 12 个顶点是由 12 个门静脉蛋白分子组成的柱状通道, 该通道的主要功能是允许一个拷贝的 PRV DNA 通过, 进入组装完成的病毒衣壳^[13]。所有的六邻体和五邻体通过三聚体 VP19C (UL38) / VP23 (UL18) / VP23 (UL18) 连接在一起, 形成完整的 PRV 病毒粒子^[14]。

2.2 PRV 主要糖蛋白

PRV 糖蛋白位于囊膜上, 已经鉴定的 PRV 糖蛋白有 11 种, 其中 gB (UL27)、gC (UL44)、gD (US6) 与病毒的免疫学特征相关, gE (US8)、gM (UL10)、gK (UL53) 与病毒毒力相关, gG (US4)、gL (UL1)、gH (UL22)、gI (US7)、gN (UL49.5) 与病毒的膜融合和免疫逃逸相关^[15]。

糖蛋白 gB 由 UL27 编码, 主要功能是通过其融合环以胆固醇依赖的方式结合到细胞膜上, 参与膜融合过程。研究表明, 由于 gB 的突变导致 PRV 突变株 JS-2012 和 Bartha-K61 的免疫反应产生较大差异, 使得经典的疫苗毒株保护力下降。gB 蛋白由 913 个氨基酸组成, 其中 1~58 为信号肽序列, 在 444 位精氨酸和 445 位丝氨酸之间存在 1 个弗林蛋白酶酶切位点, 成熟的 gB 蛋白被弗林蛋白酶切割成 gBb 和 gBc 2 个片段。研究表明, gB 有 6 个 N 糖基化位点, 在病毒入侵细胞和细胞融合的过程中起着关键作用^[16]。

糖蛋白 gB 存在多个 B 细胞抗原表位和中和性表位, 大部分 gB 抗原表位处于 14 个拓扑结构不同的结构域中, 其中 10 个抗原域位于 gB 复合体的 gBc 上, 4 个抗原域位于 gBb 上, 所有位于 gBc 上的表位均呈构象依赖性, 而 gBb 上的表位均为线性表位。在自然感染的猪和免疫的小鼠中, gBc 的构象依赖性表位在诱导 PRV 的体液免疫应答中具有重要作用^[17]。有学者鉴定出一系列 PRV-gB 的小鼠单克隆抗体 (mAbs), 可以有效地阻断 PRV 感染, 在这些 mAbs 中, 14 个以补体依赖的方式阻断 PRV 的进入, 但是 mAb 1H1 可以直接中和病毒, 不依赖于补体。同时,

该研究者在 PRV-gB 的晶体结构上绘制了这些抗原表位的分布, 结果发现所有的补体依赖性中和抗体结合位点均位于 gB 冠区, 相比之下, mAb 1H1 识别的表位处于一个包含融合环的亚基底底部, 表明 mAb 1H1 可能通过干扰膜融合过程中和病毒感染。有研究显示, 以昆虫细胞表达的重组 gB 蛋白为抗原制备疫苗, 免疫 BALB/c 小鼠, 首次免疫后 28 d, 小鼠中和抗体效价可达 1 : 23.25。该研究在小鼠二次免疫后 7 d, 采用 5 倍半数致死量 (median lethal dose, LD₅₀) 的 PRV 流行毒株 HeNLH/2017 进行攻毒, 免疫组小鼠存活率达到 100%, 未免疫组小鼠全部死亡, 表明 gB 是一种很有潜力的亚单位疫苗候选靶标^[18]。

糖蛋白 gC 由 UL44 基因编码, 由 479 个氨基酸组成, 包含 22 个氨基酸的信号肽 (1~22 aa), 胞质区 (23~472 aa) 和跨膜区 (473~479 aa)。研究表明, PRV gC 在病毒对宿主细胞的稳定吸附中起到重要作用, 在没有 gC 的情况下病毒的吸附效率明显降低, gC 缺陷的毒株滴度比野生病毒低 3~20 倍。PRV 病毒与细胞的吸附有两种方式: gC 介导的快速吸附和不依赖 gC 的不稳定慢吸附, 两种吸附方式都可以被 mAb 抑制^[19]。研究显示, gC 也是小鼠和猪的 PRV 特异性细胞毒 T 淋巴细胞的主要靶抗原, 抗 gC 的 mAb 可以引起抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (ADCC) 从而清除病毒。

糖蛋白 gD 由 US6 基因编码, 主要功能是在 PRV 入侵时与宿主受体结合, 从而启动膜融合过程。gD 的胞外区主要包含 2 个功能不同的分化结构域。其中, HSV-1 gD 的 N 末端 (1~260 aa) 主要携带受体结合位点, 而 C 末端 (260~310 aa) 是预融合结构域 (pro-fusion domain, PFD), gD 结合受体以后, PFD 的构象发生变化从而发出膜融合信号。有研究者采用杂交瘤细胞融合技术筛选到 4 株具有体外中和 PRV 感染活性的单克隆抗体, 该单抗识别 gD 蛋白³¹⁶ QPAEPFP³²² 表位^[20]。Zhang 等^[18] 以昆虫细胞表达的 gD 抗原和 gB/gD 混合抗原免疫仔猪, 在免疫后 7 d 即可产生高滴度的中和抗体, 免疫后 3 个月中和抗体效价仍然维持在 1 : 25 以上; 免疫后 28 d, 以 10^{6.6} 组织半数感染量剂量 (tissue culture infective dose 50%, TCID₅₀) 的 PRV 流行毒株 HeNLH/2017 攻毒, 结果显示 gD 和 gB/gD 免疫组仔猪未出现发烧、排毒、gE 抗体转阳和病理损伤等症状。

糖蛋白 gE 由 US8 编码, 由 579 个氨基酸组成, 属于 I 型糖蛋白, 从功能上可以分为四部分: N 端的信号肽、胞内区、跨膜区和胞外区。gE 是重要的毒力基因, 也是 PRV 毒力传播的重要媒介, 缺失 gE 导致病毒对宿主的感染能力降低。gE 含有 2 个潜在的

酪氨酸内化基序, 分别起始于 478 位和 517 位氨基酸, 参与感染细胞与临近细胞的融合, 促进病毒在细胞之间传播。gE 不是病毒完成复制的必要蛋白, 因此 gE 缺失毒株很早就被用于弱毒疫苗开发, 同时 gE 可以作为一种抗体检测靶标用于区分疫苗株和野毒株感染^[21]。

糖蛋白 gM 由 UL10 基因编码, 长度为 1 185 bp, 由 394 个氨基酸组成, 包括 8 个潜在跨膜区。研究表明 gM 和 gN 以二硫键的方式连接在一起组成异源二聚体, gM 辅助 gN 在病毒中的定位。有研究利用 CRISPR/Cas9 技术分别敲除编码 gM、TK 等蛋白编码基因, 然后在小鼠感染模型中评估这些突变对 PRV 致病性的影响。结果显示, 敲除 TK 和 gM 蛋白编码基因之后, 病毒的毒力明显下降, 表明 gM 也是影响 PRV 毒力的重要蛋白, 且 gM 蛋白缺失对 PRV 毒力的影响仅次于 TK 缺失株^[22]。

糖蛋白 gK 由 UL53 基因编码, 长度为 942 bp, 由 313 个氨基酸组成。成熟的 gK 分子量约为 36 kDa, 包含高甘露糖和 N-连接聚糖复合物, 是 PRV 进入胞内传播所必需的。gK 是重要的毒力基因, gK 缺失株的子代病毒感染滴度显著降低。

糖蛋白 gG 由 US4 基因编码, 长度为 1 497 bp, 由 498 个氨基酸组成。gG 是 PRV 感染的细胞上清液中含有最丰富的病毒蛋白, 可以和趋化因子以很高的亲和力结合。gG 与趋化因子结合抑制了趋化因子介导的细胞迁移, gG 基因缺失 PRV 毒株也丧失与趋化因子结合活性, 表明 gG 参与了 PRV 的免疫逃逸。因此, gG 虽然不是 PRV 的毒力基因, gG 缺失毒株作为候选疫苗可以提升免疫原性^[23]。

糖蛋白 gH 由 UL22 基因编码, 长度为 2 061 bp, 由 686 个氨基酸组成。gH 由 N 端胞外区和胞质尾部区域组成, 是 PRV 诱导膜融合的关键糖蛋白, 在入侵细胞以及病毒传播过程中起重要作用。研究表明 gH 和 gL 通常以异源二聚体的形式, 直接结合 gB 从而激活 gB 的膜融合功能^[24]。

糖蛋白 gL 由 UL1 基因编码, 长度为 471 bp, 由 156 个氨基酸组成。gL 与 gH 形成的异源二聚体, 在 PRV 的感染过程中发挥重要作用, 也是病毒在细胞之间传播所必需的。有研究显示, 抗 gL 多抗血清可以中和 PRV 粒子的感染, 但不能阻断 PRV 在细胞间的传播^[25]。

糖蛋白 gI 由 US7 基因编码, 长度为 1 056 bp, 由 351 个氨基酸组成, 属于 I 型跨膜蛋白, 有 6 个 N-糖基化位点。研究表明 gE 和 gI 可以组成异源二聚体, 该二聚体的主要功能是间接地促进或稳定 US9 和驱动蛋白家族成员 1A (kinesin family member 1A,

KIF1A) 之间的相互作用。这 3 种膜蛋白是 PRV 病毒粒子在神经元有效顺行传播的关键蛋白。

糖蛋白 gN 由 UL49.5 基因编码, 长度为 297 bp, 由 98 个氨基酸组成。gN 由 N 端信号肽、C 端胞质尾、内质网腔区和跨膜区组成。gN 可以阻止病毒肽通过 TAP 转运从而阻断肽负载复合物将病毒肽转运到内质网, 使得 MHC I 类分子无法在内质网膜上识别病毒多肽, 进而逃避宿主天然免疫^[26]。

3 PRV 的致病机制

3.1 PRV 的感染过程

PRV 在呼吸道的复制受多种因素影响, 如病毒接种途径、接种滴度、动物年龄和免疫状况等。PRV 首先感染鼻腔、扁桃体和口咽等上呼吸道, 主要在呼吸道上皮细胞复制, 并在 24 h 内穿过基膜, 以斑片状方式感染下层组织中的所有细胞类型 (纤维细胞、内皮细胞、单核细胞)。在肺部, PRV 在所有上皮细胞类型中复制, 并向斑块方向扩散, 肺巨噬细胞也被鉴定为感染的靶细胞^[27]。在 PRV 感染后 2~5 d, 病毒以细胞传播的方式扩散到整个黏膜上, 并深入黏膜下层。病毒复制诱导吞噬细胞在感染部位募集, 吞噬细胞开始攻击感染区域, 由此造成的大规模破坏会引起呼吸道症状, 如打喷嚏、咳嗽、流鼻涕和呼吸障碍。在后续的入侵过程中, 病毒在神经元、血液和淋巴管中传播, 并到达大脑、淋巴组织和妊娠中的子宫等重要的靶器官。在 PRV 感染猪的 2~7 d, 可以检测到 α 干扰素 (IFN- α), 且浓度与鼻内病毒载量成反比。感染后 6~7 d, 可以检测到体液免疫和局部细胞免疫, 病毒粒子被中和抗体结合而失去感染活性, 感染病毒的细胞被吞噬细胞清除。特异性免疫应答启动后, 机体开始进入恢复阶段, 在鼻腔接种后 13 d 和扁桃体接种后 18 d 能够完全消除 PRV 病毒粒子^[28]。

3.2 PRV 的入侵

PRV 的潜伏期一般为 3~6 d, 短期有 36 h, 长期可以达到 10 d。PRV 主要是通过呼吸道感染, 首先在鼻咽部、扁桃体中增殖, 经嗅神经、吞咽神经或三叉神经到达脑和脊髓, 也可以通过鼻黏膜经呼吸道感染肺泡细胞。有囊膜的病毒通常依赖于细胞融合来完成感染, 病毒穿过双层质膜把基因组 DNA 传递到胞内完成感染过程。在膜融合过程中, 病毒囊膜与细胞质膜融合, 从而使 DNA 基因组进入到宿主胞内。膜融合主要通过插入融合肽完成, 与宿主细胞相互作用引发病毒膜表面蛋白质构象发生变化, 导致囊膜上效应蛋白的一段多肽链进入靶细胞膜。病毒的融合肽通常埋藏在病毒粒子表面融合蛋白的寡聚界面上, 并在

融合过程中通过蛋白构象变化暴露出来^[17]。

3.3 PRV 的膜融合

PRV 囊膜与宿主的细胞膜或囊泡的融合是 PRV 进入易感细胞的关键环节, 这个过程涉及到 gB、gD、gH 和 gL 等糖蛋白的参与。gD 胞外区由两个结构和功能都不同的结构域组成, 包括 N 端的受体结合域和 C 端的前融合结构域 (PFD), gD 在结合受体以后, 其构象产生变化使其 C 端的 PFD 显露出来, 从而释放出膜融合信号, 激活膜融合, 最终由 gB 在 gH 和 gL 的帮助下完成膜融合过程^[29]。gD 是膜融合的启动者, gB 为膜融合过程的直接执行者, gH 和 gL 为膜融合过程的辅助者, 4 个蛋白缺一不可。研究表明 gD 结构中包含了类似于 HSV-gD 的由 N-和 C-末端延伸包裹的 IgV 样的典型折叠结构。虽然已经鉴定出几种受体, 例如 3-O-磺化-乙酰肝素 (3-O-S-HS), 疱疹病毒进入介体 A (HveA, 也称为 HVEM), TNF 受体相关蛋白和 Nectin-1 等。然而, 只有猪源 Nectin-1 与人源 Nectin-1 具有类似的结合 gD 的亲合力, 且都参与了 gD 介导的细胞融合。同时, PRV-gD/SW-Nectin-1 的复合结构表明: 受体 Nectin-1 上的 K61、T63、Q64、K75、Q76、N77、I80、N82、M85、S88、L90、A91、E125、A127、T128、F129、P130、N133 和 E135 等氨基酸是 Nectin-1 和 gD 结合的关键位点, 而这些氨基酸在许多物种的 Nectin-1 受体上 (猪、人、鼠、牛、羊、山羊、猫、犬和蝙蝠) 都是十分保守的。这表明 PRV 存在与这些物种的 Nectin-1 受体结合并且利用其完成细胞的入侵的可能性, 提示 PRV 存在跨物种感染的风险^[30]。因此, 通过阻断 gD 介导的病毒囊膜与细胞膜融合, 进而实现对 PRV 感染过程的阻断, 对开发抗 PRV 特效药物具有重要价值。

3.4 PRV 的细胞传播

疱疹病毒通过感染细胞病灶实现在体内和体外的传播, 这种传播方式逃避了抗体、补体、酶以及吞噬细胞的病毒清除作用。这种传播方式主要有 4 种机制^[31]: 第一种情况是, PRV 从已经感染的细胞直接传播到临近的未感染细胞, 这一过程由表达在感染细胞膜上的病毒糖蛋白及未感染细胞的质膜上的受体介导; 第二种情况是, 被 PRV 侵染的悬浮液里的单个细胞或细胞团能够在其表面表达 PRV 包膜蛋白, 通过这些蛋白附着并与未感染的邻近细胞融合, 这一过程的机制与病毒细胞的附着和融合非常相似; 第三种情况是, PRV 病毒诱导的突起形成后, 可能向较远处细胞而非临近的细胞传播, 这一过程涉及到细胞和病毒成分之间复杂的相互作用, 具体机制目前还不清楚, 推测该过程可能与 PRV 感染引起的肌动蛋白重

组, 应力纤维分解, 并形变成为不同的细胞突起, 与邻近细胞接触有关; 第四种情况是, PRV 在细胞黏附分子介导的附着作用下与远处的细胞发生细胞间传播。PRV 感染的单核细胞暴露于病毒特异性抗体后, 会将其病毒糖蛋白与它们对应的 MHC I 类分子一起内化, 使感染细胞无法被免疫系统的不同成分有效识别和消除。这些免疫掩蔽的单核细胞使用黏附分子 wCD11R3 和 CD18 特异性黏附内皮细胞, 随后是病毒介导的膜融合过程, 导致 PRV 向内皮细胞扩散^[32-33]。有研究显示, 以 15 mg/kg 剂量接种 PRV 中和性单克隆抗体 10B6, 可以抵抗致死剂量的 PRV 感染。进一步的研究结果显示, 10B6 可以抑制 PRV-gD 与细胞膜上的 Nectin-1 结合, 进而抑制 PRV 对易感细胞的吸附, 阻断病毒在细胞间的传播, 表明 Nectin-1 也在 PRV 的细胞传播中发挥重要作用^[20]。

4 PRV 疫苗研究

接种疫苗是防控 PRV 感染的唯一有效手段。根据《国家兽药基础数据库》(<http://www.ivdc.org.cn/xxgk/syzwglpt/>)统计, 2003 年至今共有 8 个 PRV 疫苗获得新兽药注册审批, 其中弱毒疫苗 5 个, 灭活疫苗 3 个。2013 年至今, 共有 41 个 PRV 疫苗获得临床试验审批, 其中有 21 个弱毒/基因缺失疫苗, 16 个灭活疫苗和 4 个亚单位疫苗。基因缺失疫苗与相应的鉴别诊断试剂盒联合应用, 为伪狂犬病的预防、控制和净化提供了强有力的技术支撑。

我国在 20 世纪 70 年代末由哈尔滨兽医研究所从匈牙利引进了伪狂犬疫苗 Bartha-k61 株, 为我国 PRV 感染的防控做出了重要贡献^[34]。2011 年, 国内出现了 PRV 变异株, Bratha-K61 株的免疫保护率下降, 国内多个研究团队迅速开发了针对变异株的基因缺失疫苗^[35]。有学者报道了针对 PRV 变异株的基因缺失疫苗 PRV-TJ-ΔgE, 在猪上可以保护 10⁵ TCID₅₀ PRV-TJ 野毒株感染^[36-37]。随后有研究报道, 基因缺失疫苗 HN1201-ΔTK/gE/gI 在猪上可以保护 10⁷ TCID₅₀ 的 HN1201 毒株的感染^[38-39]; 基因缺失疫苗 RSMX-ΔTK/gE/gI 可以保护 10⁷ TCID₅₀ SMX 毒株的感染^[40-41]; 基因缺失疫苗 JS-2012-ΔgE/gI 不仅可以保护 10⁵ TCID₅₀ PRV JS-2012 毒株的感染, 同时可以保护 10⁵ TCID₅₀ 的经典毒株 SC 的感染^[42]。也有研究显示, 经典的 Bartha-k61 疫苗在加强接种剂量后可以保护生长中的猪免受 PRV 变异株的感染^[43-44]。随着针对变异株的 PRV 疫苗陆续上市, 疫情得到有效控制。目前, 基因缺失弱毒疫苗仍然是临床防控 PRV 的主要手段。

灭活疫苗和亚单位疫苗具有更好的生物安全性和

更长的免疫持续期, 降低了疫苗的免疫频率, 减轻了养殖企业的免疫压力, 是 PRV 疫苗研究的热点^[45-46]。目前, 已经获得新兽药注册审批的 PRV 灭活疫苗主要有中国农科院上海兽医研究所研发的 JS-2012-ΔgI/gE 株基因缺失灭活疫苗和华中农业大学研发的 HNX-12 株 gE 基因缺失灭活疫苗。PRV 亚单位疫苗主要是以重组表达的 PRV 糖蛋白 gB、gC 和 gD 为抗原, 配合佐剂制备而成的疫苗^[47-48]。目前, 尚无 PRV 亚单位疫苗获得新兽药注册审批, 但是仅 2022 年就有 3 个 PRV 亚单位疫苗进入临床试验阶段, 可见该技术路线的高热度和认可度。不同技术路线的 PRV 疫苗具有各自的优势, 弱毒疫苗免疫起效更快, 灭活疫苗和亚单位疫苗则具有更长的免疫持续期, 序贯免疫或许会成为 PRV 疫苗接种的有效方式。

5 总结与展望

伪狂犬病是一种由口、鼻传播的病毒性传染病, 能够感染各年龄段猪, 导致猪的生长停滞、繁殖失败和仔猪死亡。目前已经鉴定的 PRV 糖蛋白有 11 种, 在介导病毒与细胞膜融合、病毒在神经元中的传导和免疫逃逸方面发挥重要作用。PRV 的感染首先发生在上呼吸道, 经膜融合进入呼吸道上皮细胞, 随后沿神经元进行传导或者直接进入肺泡进行复制。近些年来, 国内 PRV 流行株 gE 基因缺失疫苗和配套诊断试剂的研发, 为稳定猪伪狂犬病防控和促进生猪养殖业健康生产发挥重要作用。然而, 我国生猪养殖体量大, 养殖情况复杂多样, 管理水平参差不齐, 加之 PRV 能够感染多种动物, 彻底净化 PRV 任重道远。因此, 在加强免疫与临床检测、促进 PRV 无疫区建设的同时, 应积极开展 PRV 致病机制研究, 为 PRV 临床净化工作提供理论指导和技术支撑。

参考文献:

- [1] WANG G, CHEN R, HUANG P, et al. Adefovir dipivoxil efficiently inhibits the proliferation of pseudorabies virus *in vitro* and *in vivo* [J]. *Antiviral Res*, 2021, 186: 105014.
- [2] KIM H H, JI M, WANG J Y, et al. The presence of antibodies against pseudorabies virus in wild boars (*Sus scrofa*) in Korea [J]. *J Zoo Wildl Med*, 2021, 51 (4): 981-984.
- [3] WU R, BAI C, SUN J, et al. Emergence of virulent pseudorabies virus infection in northern China [J]. *J Vet Sci*, 2013, 14 (3): 363-365.
- [4] ZHAI X, ZHAO W, LI K, et al. Genome characteristics and evolution of pseudorabies virus strains in eastern China from 2017 to 2019 [J]. *Virology*, 2019, 54 (6): 601-609.
- [5] YE C, ZHANG Q, TIAN Z, et al. Genomic characterization of emergent pseudorabies virus in China reveals marked sequence

- divergence; evidence for the existence of two major genotypes [J]. *Virology*, 2015, 483: 32–43.
- [6] LIU Y, ZHANG S, XU Q, et al. Investigation on pseudorabies prevalence in Chinese swine breeding farms in 2013–2016 [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2018, 50 (6): 1279–1285.
- [7] YU X, SUN Q, KU X, et al. The epidemiological investigation of co-infection of major respiratory bacteria with pseudorabies virus in intensive pig farms in China [J]. *Vet Med Sci*, 2021, 7 (1): 175–183.
- [8] MA Z, LIU M, LIU Z, et al. Epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 and its coinfection rate in Shandong province in China from 2015 to 2018 [J]. *BMC Vet Res*, 2021, 17 (1): 17.
- [9] HUANG J, ZHU L, ZHAO J, et al. Genetic evolution analysis of novel recombinant pseudorabies virus strain in Sichuan, China [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2020, 67 (4): 1428–1432.
- [10] LIAN K, ZHANG M, ZHOU L, et al. First report of a pseudorabies-virus-infected wolf (*Canis lupus*) in China [J]. *Arch Virol*, 2020, 165 (2): 459–462.
- [11] LIU Q, WANG X, XIE C, et al. Human encephalitis caused by pseudorabies virus infection: a case report [J]. *Journal of Neurovirology*, 2020, 26 (3): 442–448.
- [12] ZHANG W, WANG R, LI L, et al. Hsp90 is involved in pseudorabies virus virion assembly via stabilizing major capsid protein VP5 [J]. *Virology*, 2021, 553: 70–80.
- [13] LU M, QIU S, ZHANG L, et al. Pseudorabies virus glycoprotein gE suppresses interferon- β production via CREB-binding protein degradation [J]. *Virus Res*, 2021, 291: 198–220.
- [14] HOMA F L, HUFFMAN J B, TOROPOVA K, et al. Structure of the pseudorabies virus capsid; comparison with herpes simplex virus type 1 and differential binding of essential minor proteins [J]. *J Mol Biol*, 2013, 425 (18): 3415–3428.
- [15] REN J, WANG H, ZHOU L, et al. Glycoproteins C and D of PRV strain HB1201 contribute individually to the escape from Bartha-K61 vaccine-induced immunity [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 323.
- [16] TU L, LIAN J, PANG Y, et al. Retrospective detection and phylogenetic analysis of pseudorabies virus in dogs in China [J]. *Arch Virol*, 2021, 166 (1): 91–100.
- [17] LI X, YANG F, HU X, et al. Two classes of protective antibodies against Pseudorabies virus variant glycoprotein B: Implications for vaccine design [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13 (12): e1006777.
- [18] ZHANG T, LIU Y, CHEN Y, et al. A single dose glycoprotein D-based subunit vaccine against pseudorabies virus infection [J]. *Vaccine*, 2020, 38 (39): 6153–6161.
- [19] ZHANG P, LV L, SUN H, et al. Identification of linear B cell epitope on gB, gC, and gE proteins of porcine pseudorabies virus using monoclonal antibodies [J]. *Vet Microbiol*, 2019, 234: 83–91.
- [20] ZHANG T, LIU Y, CHEN Y, et al. A monoclonal antibody neutralizes pseudorabies virus by blocking gD binding to the receptor nectin-1 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 188: 359–368.
- [21] WANG J, SONG Z, GE A, et al. Safety and immunogenicity of an attenuated Chinese pseudorabies variant by dual deletion of TK&gE genes [J]. *BMC Vet Res*, 2018, 14 (1): 287.
- [22] TANG Y D, LIU J T, WANG T Y, et al. Comparison of pathogenicity-related genes in the current pseudorabies virus outbreak in China [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 7783.
- [23] MILLER J L, WEED D J, LEE B H, et al. Low-pH endocytic entry of the porcine alphaherpesvirus pseudorabies virus [J]. *J Virol*, 2019, 93 (2): e01849–18.
- [24] VALLBRACHT M, REHWALDT S, KLUPP B G, et al. Functional role of N-linked glycosylation in pseudorabies virus glycoprotein gH [J]. *J Virol*, 2018, 92 (9): e00084–18.
- [25] LAMOTE J A S, KESTENS M, VAN WAESBERGHE C, et al. The pseudorabies virus glycoprotein gE/gI complex suppresses type I interferon production by plasmacytoid dendritic cells [J]. *J Virol*, 2017, 91 (7): e02276–16.
- [26] KRATCHMAROV R, KRAMER T, GRECO T M, et al. Glycoproteins gE and gI are required for efficient KIF1A-dependent anterograde axonal transport of alphaherpesvirus particles in neurons [J]. *J Virol*, 2013, 87 (17): 9431–9440.
- [27] LAVAL K, VERNEJOU J B, VAN CLEEMPUT J, et al. Virulent pseudorabies virus infection induces a specific and lethal systemic inflammatory response in mice [J]. *J Virol*, 2018, 92 (24): e01614–18.
- [28] VERPOEST S, CAY B, FAVOREEL H, et al. Age-dependent differences in pseudorabies virus neuropathogenesis and associated cytokine expression [J]. *J Virol*, 2017, 91 (2): e02058–16.
- [29] XIONG K, TAN L, YI S, et al. Low-concentration T-2 toxin attenuates pseudorabies virus replication in porcine kidney 15 cells [J]. *Toxins (Basel)*, 2022, 14 (2): 121.
- [30] ZHOU M, ABID M, CAO S, et al. Progress of research into novel drugs and potential drug targets against porcine pseudorabies virus [J]. *Viruses*, 2022, 14 (8): 1753.
- [31] RONFELDT S, FRANZKE K, HOLPER J E, et al. Mutational functional analysis of the pseudorabies virus nuclear egress complex-nucleocapsid interaction [J]. *J Virol*, 2020, 94 (8): e01910–19.
- [32] RICHARDS A L, SOLLARS P J, PITTS J D, et al. The pUL37 tegument protein guides alpha-herpesvirus retrograde axonal transport to promote neuroinvasion [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13 (12): e1006741.
- [33] VALLBRACHT M, BRUN D, TASSINARI M, et al. Structure-function dissection of the pseudorabies virus glycoprotein B fusion loops [J]. *J Virol*, 2017, 92 (1): e01203–17.
- [34] YU Z Q, TONG W, ZHENG H, et al. Variations in glycoprotein B contribute to immunogenic difference between PRV variant JS-2012 and Bartha-K61 [J]. *Vet Microbiol*, 2017, 208: 97–105.
- [35] LI A, LU G, QI J, et al. Structural basis of nectin-1 recognition by pseudorabies virus glycoprotein D [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13 (5): e1006314.
- [36] WANG C H, YUAN J, QIN H Y, et al. A novel gE-deleted pseudorabies virus (PRV) provides rapid and complete protection from lethal challenge with the PRV variant emerging in Bartha-K61-vaccinated swine population in China [J]. *Vaccine*, 2014, 32 (27): 3379–3385.
- [37] ZHANG C, GUO L, JIA X, et al. Construction of a triple gene-deleted Chinese Pseudorabies virus variant and its efficacy study as a vaccine candidate on suckling piglets [J]. *Vaccine*, 2015, 33 (21): 2432–2437.
- [38] HU R M, ZHOU Q, SONG W B, et al. Novel pseudorabies virus variant with defects in TK, gE and gI protects growing pigs against le-

- thal challenge [J]. *Vaccine*, 2015, 33 (43): 5733–5740.
- [39] TONG W, LI G, LIANG C, et al. A live, attenuated pseudorabies virus strain JS-2012 deleted for gE/gI protects against both classical and emerging strains [J]. *Antiviral Research*, 2016, 130: 110–117.
- [40] TANNETI N S, FEDERSPIEL J D, CRISTEA I M, et al. The axonal sorting activity of pseudorabies virus Us9 protein depends on the state of neuronal maturation [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16 (12): e1008861.
- [41] DONG J, GU Z, JIN L, et al. Polymorphisms affecting the gE and gI proteins partly contribute to the virulence of a newly-emergent highly virulent Chinese pseudorabies virus [J]. *Virology*, 2018, 519: 42–52.
- [42] ZHOU J, LI S, WANG X, et al. Bartha-k61 vaccine protects growing pigs against challenge with an emerging variant pseudorabies virus [J]. *Vaccine*, 2017, 35 (8): 1161–1166.
- [43] VALLBRACHT M, FUCHS W, KLUPP B G, et al. Functional relevance of the transmembrane domain and cytoplasmic tail of the pseudorabies virus glycoprotein H for membrane fusion [J]. *J Virol*, 2018, 92 (12): e00376–18.
- [44] KLUPP B G, HELMBERG T, RONFELDT S, et al. Function of the nonconserved N-terminal domain of pseudorabies virus pUL31 in nuclear egress [J]. *J Virol*, 2018, 92 (15): e00566–18.
- [45] NAUWYNCK H, GLORIEUX S, FAVOREEL H, et al. Cell biological and molecular characteristics of pseudorabies virus infections in cell cultures and in pigs with emphasis on the respiratory tract [J]. *Vet Res*, 2007, 38 (2): 229–241.
- [46] 章晨昕, 于晓明, 侯立婷, 等. 伪狂犬活/灭活病毒接种小鼠诱导免疫效力及差异因子比较 [J]. *南京农业大学学报*, 2023, 46 (1): 106–111.
- [47] VALLBRACHT M, KLUPP B G, METTENLEITER T C, et al. Influence of N-glycosylation on expression and function of pseudorabies virus glycoprotein gB [J]. *Pathogens*, 2021, 10 (1): 61.
- [48] PAPAGEORGIU K, GRIVAS I, CHIOTELLI M, et al. Age-dependent invasion of pseudorabies virus into porcine central nervous system via maxillary nerve [J]. *Pathogens*, 2022, 11 (2): 157.