王凯月，姜丹丹，郑宇航，等. 5-氨基乙酰丙酸抗猪繁殖与呼吸综合征病毒作用的研究［J］. 畜牧与兽医，2025，57（1）：79-85.
WANG K Y，JIANG D D，ZHENG Y H，et al. Study on anti-PRRSV effect of 5-aminolevulinic acid［J］. Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2025，57（1）：79-85.

5-氨基乙酰丙酸抗猪繁殖与呼吸综合征病毒作用的研究

王凯月[1]，姜丹丹[2]，郑宇航[2,3]，李均同[2]，吴香菊[2]，胡悦[2]，
齐静[2]，丛晓燕[2]，孙英峰[1*]，杜以军[2*]
（1. 天津农学院动物科学与动物医学学院/天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室，天津　300392；
2. 山东省农业科学院畜牧兽医研究所/山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室，山东 济南　250100；
3. 青岛农业大学动物医学院，山东 青岛　266109）

摘要：猪繁殖与呼吸综合征（PRRS）是由猪繁殖与呼吸综合征病毒（PRRSV）感染引起的一种急性、高度接触性传染病，5-氨基乙酰丙酸（5-ALA）是一种天然氨基酸，具有重要的抗病毒功能，能够抑制多种病毒的复制。为了研究 5-ALA 抗 PRRSV 作用，通过 CCK-8 法检测 5-ALA 对永生化猪肺泡巨噬细胞（PAM-KNU）的细胞毒性，通过预防、直接杀灭和治疗 3 种给药方式来判定 5-ALA 抑制 PRRSV 增殖的最佳作用方式和最佳作用浓度。结果：当药物浓度为 1 mmol/L 时，病毒滴度及其 cDNA 拷贝数水平显著下调，同时，5-ALA 对 PRRSV 的预防作用和直接杀灭作用优于其治疗作用；从吸附、内化、早期胞内复制 3 个环节检测 5-ALA 对 PRRSV 复制周期的影响，结果表明 5-ALA 在感染细胞的内化环节和早期胞内复制环节起作用。本研究证实了 5-ALA 可以抑制 PRRSV 复制，为预防和治疗 PRRSV 感染提供了理论基础。

关键词：猪繁殖与呼吸综合征病毒；5-氨基乙酰丙酸；抗病毒
中图分类号：S858.28　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0529-5130(2025)01-0079-07

Study on anti-PRRSV effect of 5-aminolevulinic acid

WANG Kaiyue[1]，JIANG Dandan[2]，ZHENG Yuhang[2,3]，LI Juntong[2]，WU Xiangju[2]，HU Yue[2]，
QI Jing[2]，CONG Xiaoyan[2]，SUN Yingfeng[1*]，DU Yijun[2*]
（1. Tianjin Key Laboratory of Agricultural Animal Breeding and Healthy Husbandry，College of Animal Science and Veterinary Medicine，Tianjin Agricultural University，Tianjin 300392，China；
2. Shandong Key Laboratory of Animal Disease Control and Breeding，Institute of Animal Science and Veterinary Medicine，Shandong Academy of Agricultural Sciences，Jinan 250100，China；
3. College of Veterinary Medicine，Qingdao Agricultural University，Qingdao 266109，China）

Abstract：Porcine reproductive and respiratory syndrome（PRRS）is an acute，highly contagious disease caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus（PRRSV）. 5-aminolevulinic acid（5-ALA），as a natural amino acid，plays important antiviral function，and it inhibits replication of multiple viruses. However，whether 5-ALA can exert anti-PRRSV effect has not been reported，to our knowledge. In this study，the cytotoxicity of 5-ALA on PAM-KNU cells was detected by CCK-8 assay. The optimal method for and the optimal concentration of 5-ALA to inhibit PRRSV propagation were determined by three modes of administration：prevention，direct killing and treatment. The results showed that the viral titers and cDNA copies were significantly down-regulated when the 5-ALA concentration was 1 mmol/L. Meanwhile，the anti-PRRSV effect of prevention and direct killing of 5-ALA were more effective than the function of treatment. The effect of 5-ALA on PRRSV replication cycle was investigated by three periods：adsorption，internalization and early intracellular replication. The results showed that 5-ALA played a key role in the internalization and early intracellular replication period to inhibit PRRSV replication. Our study suggested that 5-ALA could inhibit PRRSV replication，which might serve as theoretical support for the prevention and treatment of PRRSV

收稿日期：2024-02-01；修回日期：2024-10-31
基金项目：山东省自然科学基金项目（ZR2021MC139，ZR2023MC076）；国家自然科学基金项目（32102710）；国家兽用生物制品工程技术研究中心开放课题项目（GTKF（23）009）
第一作者：王凯月，女，硕士研究生
* 通信作者：孙英峰，教授，研究方向：动物分子病毒学，E-mail：yfsun2000@163.com；杜以军，研究员，研究方向：动物传染病的预防，E-mail：duyijun0916@163.com。

infection.

Keywords: porcine reproductive and respiratory syndrome virus; 5-aminolevulinic acid; antiviral effect

猪繁殖与呼吸综合征（porcine reproductive and respiratory syndrome，PRRS）也称蓝耳病，是由猪繁殖与呼吸综合征病毒（porcine reproductive and respiratory syndrome virus，PRRSV）感染引起的一种急性、高度接触性传染病，特征是母猪厌食、发热，妊娠后期发生流产，产死胎、木乃伊胎，仔猪易死亡及各种年龄的猪均具有不同程度的呼吸道症状，并且会破坏猪的免疫系统，引起混合感染或继发感染[1-3]。

PRRSV 是一种不分节段、有囊膜的单股正链 RNA 病毒，直径为 50～60 nm，属于套式病毒目（*Nidovirales*）动脉炎病毒科（*Arteriviridae*），基因组长约 15 kb，至少编码 10 个开放阅读框（ORFs）。在过去的大约 30 年内，PRRSV 不断地变异和重组，致病机制复杂，PRRS 已成为严重威胁我国养猪业发展的重要传染病之一，被我国农业农村部列为二类传染病。当前该病的预防策略主要采取弱毒苗和灭活疫苗预防，但由于弱毒苗存在田间重组的风险，灭活疫苗很难产生中和抗体。因此，研发抑制 PRRSV 增殖的药物能够为 PRRS 的防控提供新的思路和方法[4-6]。

5-氨基乙酰丙酸（5-aminolevulinic acid，5-ALA）是一种由琥珀酰辅酶 A 和甘氨酸缩合而成的天然氨基酸，是生物合成叶绿素、血红素、VB_{12}等四氢吡咯的前体化合物，广泛存在于微生物、植物和动物细胞中[7-8]。最近有研究表明，5-ALA 能够抑制新型冠状病毒的感染[9]，同时有报道发现 5-ALA 能够抑制猪瘟病毒的增殖[10]，但 5-ALA 是否抑制 PRRSV 的增殖尚未见报道。本研究发现了 5-ALA 可以通过多种方式，在感染的不同环节抑制 PRRSV 复制，为 PRRS 的防控提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、病毒、质粒及药物

永生化猪肺泡巨噬细胞（PAM-KNU）[11]、MARC-145 细胞、PRRSV 毒株、pXJ41-N 质粒均为山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室保存；5-ALA 为天津博菲德科技有限公司产品。

1.2 主要试剂

总 RNA 提取试剂盒 RNA-easy Isolation Reagent、反转录试剂盒 HiScript® Ⅲ RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；荧光定量试剂盒 2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix 购自北京康润诚业生物科技有限公司；CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒购自兰杰柯科技有限公司；PRRSV-N 抗体由南京农业大学姜平教授惠赠；β-actin 抗体购自美国 NOVUS 公司；HRP-羊抗小鼠 IgG 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司；极超敏化学发光试剂盒 Sparkjade ECL super 购自山东思科捷生物技术有限公司。

1.3 5-ALA 安全浓度的测定

使用 CCK-8 试剂盒检测不同浓度 5-ALA 对 PAM-KNU 细胞的影响。将 PAM-KNU 细胞均匀铺在 96 孔板中。用细胞维持液将 5-ALA 梯度稀释成 2.5、2、1.5、1、0.5、0.25、0.125 mmol/L 的溶液，每孔 100 μL，同时设置细胞对照组和空白对照组，对照组均加入细胞维持液，每组设置 4 个重复，置于细胞培养箱中 37 ℃孵育 24 h 后，使用 CCK-8 法测定 $OD_{450\ nm}$值，计算 5-ALA 的不同浓度条件下的细胞存活率，以测定 5-ALA 的最大安全浓度。

1.4 半数组织培养感染量（$TCID_{50}$）的测定

将 MARC-145 细胞均匀铺至 96 孔板中，待细胞长满后，弃去细胞营养液，用细胞维持液将病毒进行倍比稀释，每孔加入 100 μL 病毒稀释液，每个稀释浓度设置 4 个重复，置于细胞培养箱中 37 ℃孵育 5 d，每隔 24 h 在显微镜下观察细胞是否发生病变，最后根据 Reed-Muench 公式计算病毒滴度。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测

将病毒和药物处理后的细胞提取 RNA，并反转录成 cDNA，以 cDNA 为模板，同时将 pXJ41-N 质粒连续稀释 10 倍作为模板。根据 GenBank 上收录的基因序列，利用 Primer Premier 5 软件分别设计目的基因的上、下游引物，PRRSV-N-F：5′-AATAACAACGGCAAGCAGCAG-3′，PRRSV-N-R：5′-CCTCTGGACTGGTTTTGTTGG-3′，进行荧光定量 PCR 检测。选择 pXJ41-N 质粒的结果生成标准曲线，通过对照标准曲线生成的公式计算出样品的 PRRSV cDNA拷贝数。

1.6 Western blot 分析

将病毒和药物处理后的细胞提取总蛋白，用 BCA 法测定各组样品蛋白浓度，根据测定结果加入裂解液调整浓度至一致，加入蛋白上样缓冲液，置于沸水中煮 15 min。通过 SDS-PAGE 分离样品蛋白，将蛋白转移至 NC 膜上。用 1×TBST 加 5%脱脂奶粉配制封闭液，摇床上室温孵育 1.5～2 h。回收封闭液，TBST 洗 5 次，每次 1 min，孵育 PRRSV-N 单克隆抗体及 β-actin 抗体，摇床上 4 ℃孵育过夜。回收抗体，TBST 洗 5 次，每次 5 min，孵育 HRP-羊抗鼠

IgG 抗体，摇床上室温孵育 1 h。回收二抗，TBST 洗 5 次，每次 5 min。最后用 ImageQuant LAS 500 化学发光成像仪曝光，保存图片进行分析。

1.7　5-ALA 的抗 PRRSV 活性测定

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，待细胞长满单层后弃去营养液，加入含有不同浓度 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L）的细胞维持液，置于 CO_2 培养箱中，37 ℃孵育 24 h，弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，37 ℃孵育 24 h，收集细胞提取 RNA 进行荧光定量 PCR 检测，提取蛋白进行 Western blot 检测。

1.8　5-ALA 抑制 PRRSV 增殖最佳作用方式和浓度

1.8.1　5-ALA 对 RRRSV 的预防作用

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。用细胞维持液配制不同浓度的 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L），待细胞长满单层后弃去营养液，加入不同浓度药物，37 ℃孵育 4 h。弃去上清液，PBS 洗涤 2 次，加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育2 h。弃去上清液，PBS 洗涤 2 次，加入细胞维持液 37 ℃孵育 48 h，收集细胞上清液测定 $TCID_{50}$，收集细胞进行荧光定量 PCR 检测。

1.8.2　5-ALA 对 PRRSV 的直接杀灭作用

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。用 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV 配制不同浓度的 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L），混合液 4 ℃放置 1 h，待细胞长满单层后弃去营养液，将混合液接种到细胞中，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育 2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入细胞维持液 37 ℃孵育 48 h，收集细胞上清液测定 $TCID_{50}$，收集细胞进行荧光定量 PCR 检测。

1.8.3　5-ALA 对 PRRSV 的治疗作用

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。用细胞维持液配制不同浓度的 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L），待细胞长满单层后加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育 2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入不同浓度 5-ALA，37 ℃孵育 48 h，收集细胞上清液测定 $TCID_{50}$，收集细胞进行荧光定量 PCR 检测。

1.9　5-ALA 对 PRRSV 复制周期的影响

1.9.1　5-ALA 对 PRRSV 吸附时期的影响

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。用细胞维持液配制不同浓度的 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L），细胞长满单层后将其放在 4 ℃预冷 1 h，加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，并且加入不同浓度 5-ALA，4 ℃孵育2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入细胞维持液，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育 48 h，收集细胞上清液测定 $TCID_{50}$，收集细胞进行荧光定量 PCR 检测。

1.9.2　5-ALA 对 PRRSV 内化时期的影响

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。用细胞维持液配制不同浓度的 5-ALA（1、0.5、0.25、0.125 mmol/L），细胞长满单层后将其放在 4 ℃预冷 1 h，加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，4 ℃孵育 2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入不同浓度 5-ALA，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育 2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入细胞维持液，37 ℃孵育 48 h，收集细胞上清液测定 $TCID_{50}$，收集细胞进行荧光定量 PCR 检测。

1.9.3　5-ALA 对 PRRSV 复制时期的影响

PAM-KNU 细胞接种 24 孔板，设置空白对照组、病毒对照组、试验药物组。细胞长满单层后，加入 100 $TCID_{50}$ 的 PRRSV，在 CO_2 培养箱中 37 ℃孵育2 h。弃去上清液，用 PBS 洗涤 2 次，加入最佳浓度 5-ALA（1 mmol/L），37 ℃孵育，此时记为 0 h，分别在 0、3、6、9、12、18、24 h 收集上清液及细胞，其中上清液用于测定 $TCID_{50}$，细胞提取总 RNA 进行荧光定量 PCR 检测，提取总蛋白进行 Western blot 检测。

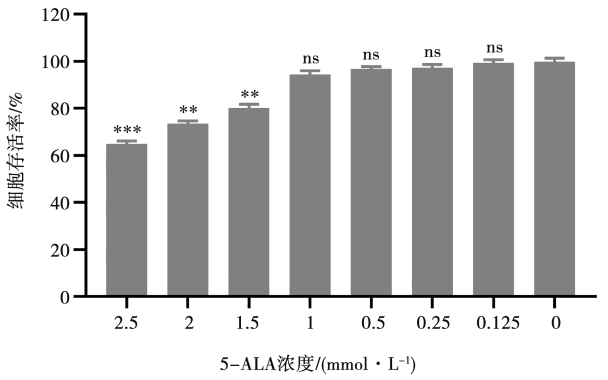
1.10　数据统计与分析

试验数据使用 Excel 2007 进行初步整理，使用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析，以 t 检验分析组间差异性，以 $P<0.05$ 表示差异显著，$P<0.01$ 表示差异极显著。

2　结果与分析

2.1　5-ALA 安全浓度的测定

分别以不同浓度 5-ALA 处理 PAM-KNU 细胞，不加药物组作为阴性对照，用 CCK-8 法测定各组吸光度，根据 $OD_{450\ nm}$ 值计算各组细胞存活率。各组细胞存活率如图 1 所示，在 1 mmol/L 及以下浓度的 5-ALA 作用下，细胞存活率达到 90%以上，对细胞影响较小。因此，试验选取 1、0.5、0.25、0.125 mmol/L 作为安全浓度。



注：与阴性对照组相比，＊＊表示 $P<0.01$，＊＊＊表示 $P<0.001$，ns 表示 $P>0.05$。下同。

图 1 不同浓度 5-ALA 作用下 PAM-KNU 细胞的存活率

2.2 5-ALA 的抗 PRRSV 活性

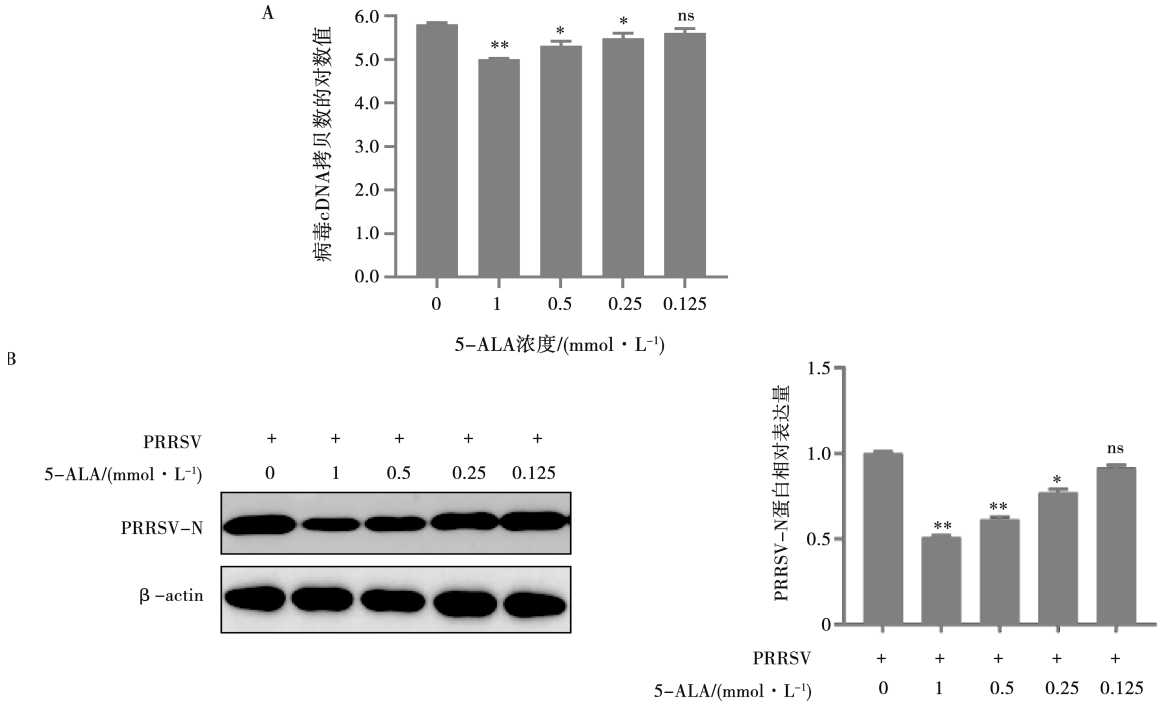
为了确定 5-ALA 在体外对 PRRSV 的抑制作用，试验设定了 2.1 结果中选取的 1、0.5、0.25 和 0.125 mmol/L 这 4 个浓度，并且设置病毒对照组，检测病毒 cDNA 拷贝数和细胞中 PRRSV-N 蛋白水平。试验结果显示，加药组的病毒 cDNA 拷贝数与病毒对照组相比显著下调（图 2A），且细胞中 PRRSV 的 N 蛋白含量明显降低且呈剂量依赖性（图 2B），表明 5-ALA 在体外 PAM-KNU 细胞上具有抗 PRRSV 活性。

2.3 5-ALA 抑制 PRRSV 增殖的最佳摩尔浓度和最佳作用方式

试验以预防、直接杀灭和治疗 3 种给药方式研究了 5-ALA 对 PRRSV 的抑制效果，结果如图 3 所示。当药物浓度为 1 mmol/L 时，试验组与对照组细胞中的病毒滴度和 cDNA 拷贝数有显著差异，且随着药物浓度增加，病毒滴度和 cDNA 拷贝数水平显著下调，成浓度依赖性。在给药方式上，5-ALA 对 PRRSV 具有一定的预防、直接杀灭和治疗作用。通过不同给药方式的试验数据来看，相同浓度的 5-ALA 处理后，预防作用的病毒滴度和 cDNA 拷贝数最低，与病毒对照组差异最大；直接杀灭作用效果其次，治疗作用较差，表明 5-ALA 的预防作用抑制病毒的效果最佳。后续的 5-ALA 对 PRRSV 抗病毒试验采用 1 mmol/L 剂量的预防作用进行。

2.4 5-ALA 对 PRRSV 复制周期的影响

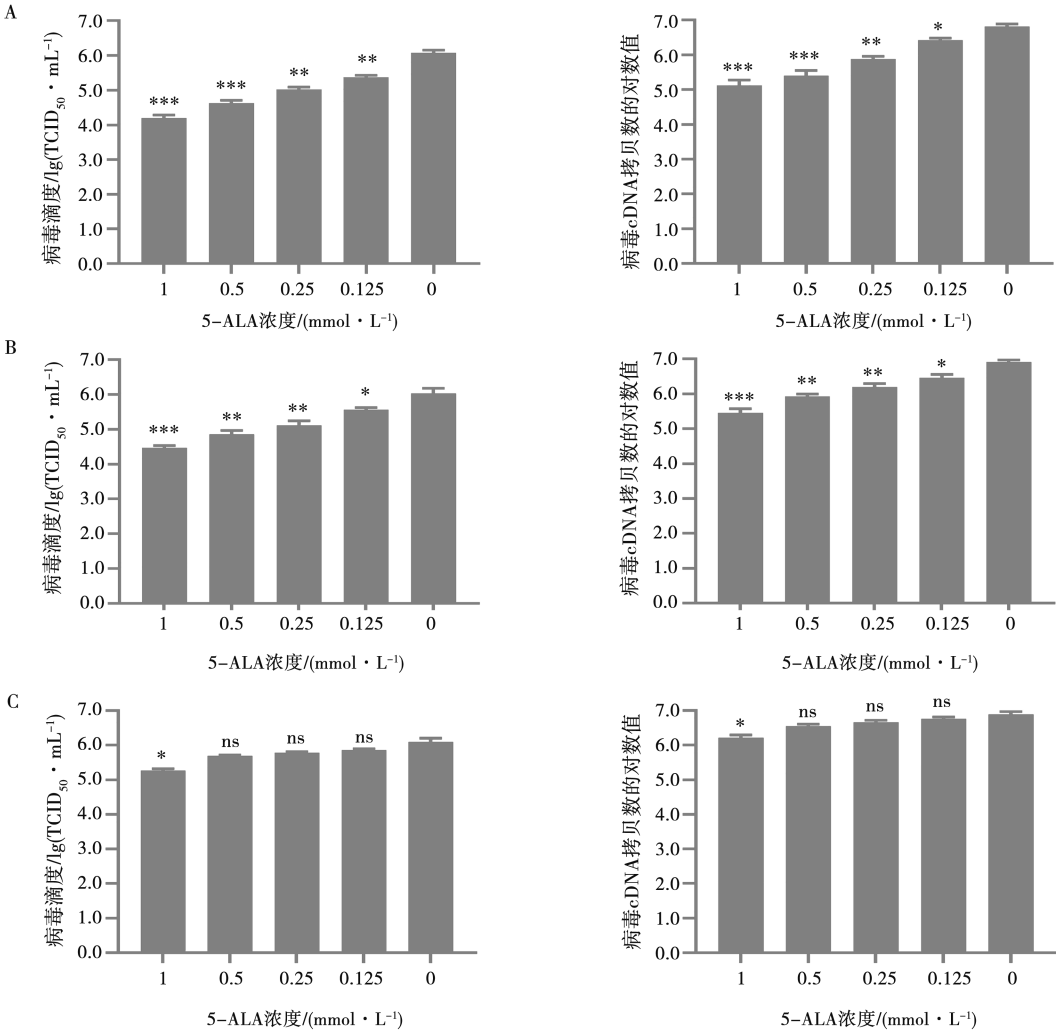
当药物作用于病毒吸附环节时，1 mmol/L 浓度的试验组细胞中的病毒滴度和 cDNA 拷贝数低于对照组，其他浓度试验组与对照组无显著差异（图 4A）。当药物作用于病毒内化环节时，试验组细胞中的病毒滴度和 cDNA 拷贝数都显著低于对照组（图 4B）。当药物作用于病毒在细胞内的早期复制时，每个时间点的病毒滴度和 cDNA 拷贝数差异显著，通过 Western blot 蛋白水平进行检测，然后以 β-actin 为参照进行灰度分析，可见加药组细胞中 PRRSV-N 蛋白表达水平显著降低（图 4C）。结果表明，5-ALA 主要在 PRRSV 复制的内化环节和早期胞内复制环节起作用。



注：与阴性对照组相比，＊表示 $P<0.05$。下同。

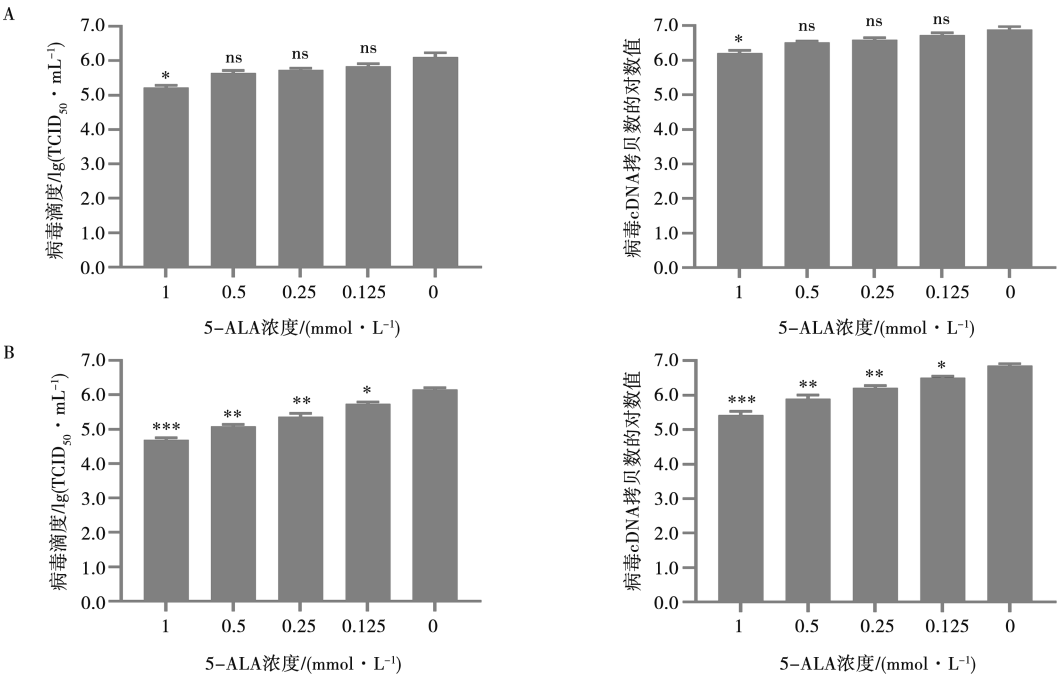
A. PRRSV cDNA 拷贝数；B. PRRSV-N 蛋白表达水平。

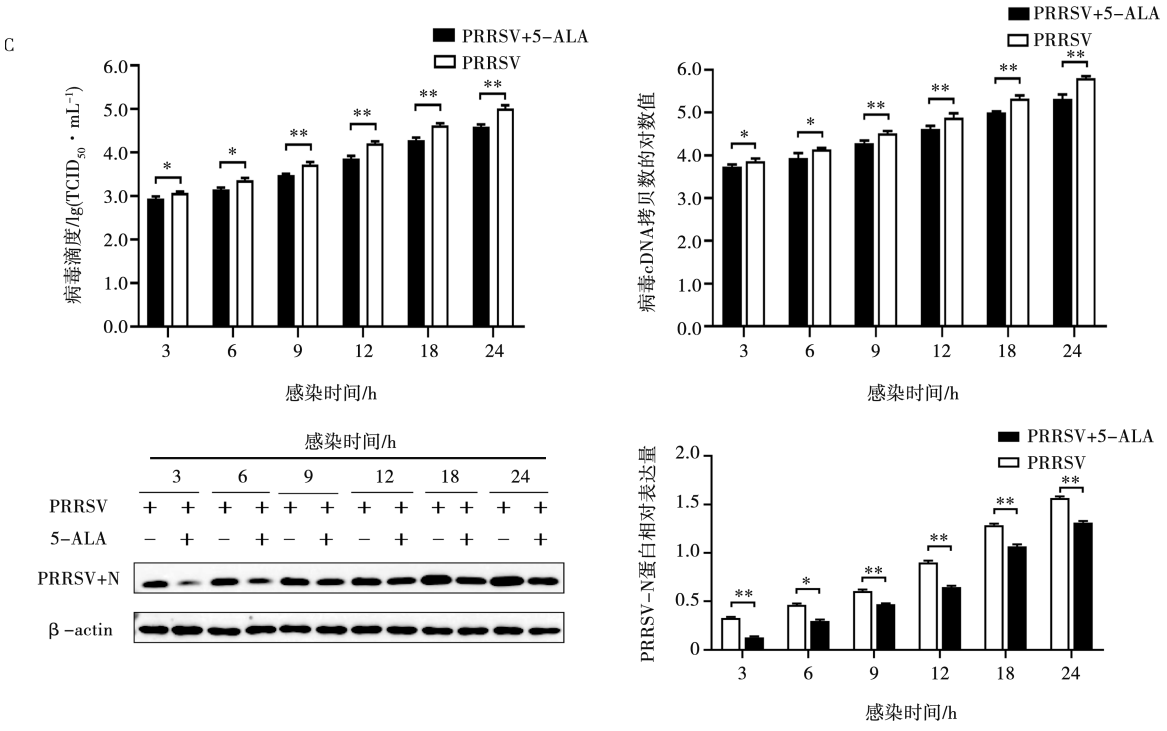
图 2 5-ALA 的抗 PRRSV 活性测定



A. 预防作用；B. 直接杀灭作用；C. 治疗作用。

图 3　5-ALA 抑制 PRRSV 增殖的最佳作用方式和浓度





注：* 表示 $P<0.05$，** 表示 $P<0.01$。

A. 吸附时期；B. 内化时期；C. 早期胞内复制。

图 4 5-ALA 对 PRRSV 复制环节的影响

3 讨论

猪是 PRRSV 的唯一宿主，具有较为严格的宿主嗜性，任何性别、年龄、品种的生猪均可感染，且传染性极强。PRRS 的主要传染源是患病猪和隐性感染猪，感染后的康复猪也能长时间排毒，所以发生过 PRRS 的生猪养殖场，病毒容易在猪群内反复传播，不易根治。而 PRRSV 作为 RNA 病毒，在传播和进化过程中极容易发生变异，临床上的 PRRSV 复杂多样，为 PRRS 的防控带来巨大困难，给我国生猪养殖业造成巨大的经济损失，在找到新型的有效药物之前，疫苗免疫仍是防控 PRRS 的重要手段[12-13]。但目前针对 PRRSV 的弱毒活疫苗在安全性和交叉保护性方面存在一定缺陷，如果减毒不彻底会引起返毒，造成感染，而灭活疫苗在灭活过程中容易造成抗原表位缺失，抗原性减弱等情况，可能影响免疫效果，需要反复接种[14-15]。因此，探索新的抗 PRRSV 药物能够为 PRRS 的防控提供新的思路和方法。

5-ALA 又称 δ-氨基乙酰丙酸，分子式是 $C_5H_9NO_3$，是一种纯天然的非蛋白质 δ-氨基酸，为白色固体，易溶于水，需干燥避光保存[16]。5-ALA 具有高水溶性和低细胞毒性的特点，在环境中易降解且无残留，还作为生物体内源性物质在生命过程中发挥着重要的作用，因此具有广阔的应用和市场开发前景[17]。5-ALA 在体内可以转化为原卟啉 IX（PpIX），PpIX 在亚铁离子的存在下进一步转化为血红素，调控机体的供养过程[7-8]。此前的研究表明，5-ALA 具有抗病毒感染的能力，在临床治疗过程中，5-ALA 可作为光敏剂用于光动力疗法，有效降低人乳头瘤病毒（HPV）感染引起的子宫颈高级别鳞状上皮内病变[18]；在体外，5-ALA 可以抑制 SARS-CoV-2 武汉株以及 Alpha、Beta、Gamma 和 Delta 变异株的感染[19]；此外，5-ALA 对于猫传染性腹膜炎病毒的感染也具有一定的抑制作用，可以作为治疗宠物病毒感染的候选药物[20]。PpIX 作为 5-ALA 的代谢产物，同样具有抑制病毒感染的功能，PpIX 通过灭活病毒颗粒和抑制复制周期发挥抗猪瘟病毒感染的作用[11]；PpIX 可以通过诱导膜紊乱和改变膜的通透性，破坏病毒包膜蛋白的完整性，影响病毒形态、吸附和进入靶细胞，抑制登革热病毒（DENV）、黄热病病毒（YFV）、基孔肯雅病毒（CHIKV）、寨卡病毒（ZIKV）以及水疱性口炎病毒（VSV）的感染[21-23]。

综上，5-ALA 可以抑制 PRRSV 复制，同时，5-ALA 抑制 PRRSV 增殖的最佳浓度为 1 mmol/L，最佳作用方式为预防作用，能够抑制 PRRSV 复制周期的内化环节和早期胞内复制环节。本研究明确了 5-

ALA 具有抗 PRRSV 感染的作用，为 5-ALA 作为抗 PRRSV 感染药物的开发提供了理论依据。

参考文献：

[1] 史静，王许刚，卢佳慧，等. 猪繁殖与呼吸综合征的研究进展[J]. 北方牧业，2022（15）：23-25.

[2] 李弥牢. 猪繁殖与呼吸综合征疫苗的研究进展[J]. 中国猪业，2022，17（5）：87-89.

[3] 沙惠阳，张航，黄良宗，等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 NSP4 研究进展[J]. 动物医学进展，2022，43（10）：80-85.

[4] 姜丹丹，王凯月，杜以军，等. 2021—2022 年山东省猪繁殖与呼吸综合征病毒分子流行病学调查[J]. 畜牧与兽医，2023，55（6）：87-92

[5] 陈旭，汤德元，曾智勇，等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒结构蛋白和非结构蛋白研究进展[J]. 动物医学进展，2023，44（9）：76-81.

[6] 刘桂秀，覃新云，吕其壮，等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒的流行病学研究进展[J]. 山东农业科学，2022，54（8）：151-157.

[7] 安玉涵，马伊丹，杨佳，等. 5-氨基乙酰丙酸（5-ALA）的生物学作用及其在动物生产中的应用[J]. 饲料研究，2023，46（19）：150-154.

[8] 李军辉，姜淑贞，王长波，等. 5-氨基乙酰丙酸的生物学功能及其在畜禽生产中的应用[J]. 动物营养学报，2023，35（1）：120-126.

[9] SAKURAI Y，NGWE TUN M M，KUROSAKI Y，et al. 5-amino levulinic acid inhibits SARS-CoV-2 infection *in vitro*[J]. Biochem Biophys Res Commun，2021，545：203-207.

[10] HIROSE S，ISODA N，HUYNH L T，et al. Antiviral effects of 5-aminolevulinic acid phosphate against classical swine fever virus：*in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. Pathogens，2022，11（2）：164.

[11] JIANG D，HE M，SUI C，et al. PRRSV nonstructural protein 11 degrades swine ISG15 by its endoribonuclease activity to antagonize antiviral immune response[J]. Vet Microbiol，2023，280：109720.

[12] 吴芷慧，刘元，胡文锋，等. 黑水虻（*Hermetia illucens* L.）幼虫脂肪抑制猪繁殖与呼吸综合征病毒的体外增殖[J]. 畜牧与兽医，2021，53（8）：79-85.

[13] YANG Q，GAO L，SI J，et al. Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication by flavaspidic acid AB[J]. Antiviral Res，2013，97（1）：66-73.

[14] BOTNER A，STRANDBYGAARD B，SORENSEN K J，et al. Appearance of acute PRRS - like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine[J]. Vet Rec，1997，141（19）：497-499.

[15] SCORTTI M，PRIETO C，MARTINEZ-LOBO F J，et al. Effects of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts[J]. Vet J，2006，172（3）：506-514.

[16] 刘晖，康琅，刘卫琴，等. 5-氨基乙酰丙酸（5-ALA）在水溶液中的稳定性[J]. 南京农业大学学报，2006（2）：29-32.

[17] 俞建良，郭孝孝，熊结青. 5-氨基乙酰丙酸的应用研究进展[J]. 化学与生物工程，2015，32（9）：10-15.

[18] QU Z，WANG Z，QIU S，et al. Efficacy of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid for the treatment of cervical high-grade squamous intraepithelial lesions with high-risk HPV infection：a retrospective study[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther，2022，40：103068.

[19] NGWE TUM M M，SAKURA T，SAKURAI Y，et al. Antiviral activity of 5-aminolevulinic acid against variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2[J]. Trop Med Health，2022，50（1）：6.

[20] TAKANO T，SATOH K，DOKI T. Possible antiviral activity of 5-aminolevulinic acid in feline infectious peritonitis virus（feline coronavirus）infection[J]. Front Vet Sci，2021，8：647189.

[21] ASSUNCAO-MIRANDA I，CRUZ-OLIVEIRA C，NERIS R L S，et al. Inactivation of dengue and yellow fever viruses by heme，cobalt-protoporphyrin IX and tin-protoporphyrin IX[J]. J Appl Microbiol，2016，120：790-804.

[22] CRUZ-OLIVEIRA C，ALMEIDA A F，FREIRE J M，et al. Mechanisms of vesicular stomatitis virus inactivation by protoporphyrin IX，zinc-protoporphyrin IX，and mesoporphyrin IX[J]. Antimicrob Agents Chemother，2017，61：e00053-17.

[23] NERIS R L S，FIGUEIREDO C M，HIGA L M，et al. Co-protoporphyrin IX and Sn - protoporphyrin IX inactivate Zika，Chikungunya and other arboviruses by targeting the viral envelope[J]. Sci Rep，2018，8（1）：9805.