



禽坦布苏病毒诱导的宿主免疫应答

廖源¹, 蔡彬祥¹, 陈玉海², 王松^{1*}, 陈吉龙^{1,2*}

¹福建农林大学动物科学学院, 闽台动物病原生物学福建省高校重点实验室, 福建 福州 350002

²中国科学院微生物研究所, 中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

摘要: 禽坦布苏病毒(Avian Tembusu virus, ATMUV)是近年来在我国新发现的一种病毒, 可感染多种蛋禽, 感染动物临床特征为采食量下降, 产蛋量骤减, 甚至停产, 感染后期呈神经症状, 如腿和翅膀麻痹、共济失调等。ATMUV 在我国多个省市地区流行, 给我国甚至世界养禽业带来严重影响。固有免疫是机体抵抗病原感染的第一道重要防线, 是机体与生俱来的抵御病原微生物的能力。适应性免疫是机体免疫系统在抗原刺激下产生特异性抗体及免疫效应细胞的过程, 以建立针对某种病原微生物的抵抗力, 是机体免疫系统的重要部分。本文将从禽坦布苏病毒诱导宿主固有免疫应答和适应性免疫应答两方面进行综述。

关键词: 禽坦布苏病毒, 固有免疫应答, 适应性免疫应答, 病毒与宿主互作

禽坦布苏病毒(Avian Tembusu virus, ATMUV)是近年来在我国新发现的一种病毒, 自 2010 年以来, ATMUV 在我国多个省市地区的蛋鸭、种鸭场暴发流行^[1]。2012 年, Homonnay 等在马来西亚多个肉鸭场分离到与我国流行的 ATMUV 相似的病毒^[2]。2013 年, 泰国养鸭区也有 ATMUV 感染并造成大量经济损失的相关报道^[3]。由此可见, ATMUV 是近年来严重危害我国及东南亚地区养殖业的新发病原。ATMUV 属于黄病毒科(Flaviviridae)黄病毒属(Flavivirus)恩塔亚病毒群(Ntaya virus

group)中的一员^[1,4-6]。ATMUV 能引起产蛋下降综合征(Duck egg-drop syndrome, DEDS)、采食困难、体温上升, 感染后期多引起神经症状, 如瘫痪、共济失调、行走不稳等, 造成病禽产蛋量急剧下降甚至停产, 营养不良及其他病原体继发感染, 造成巨大经济损失^[1,5,7]。本病发病突然, 传播迅速, 发病率极高, 可达 100%, 死亡率约为 5%–20%^[1,5]。禽感染 ATMUV 后, 剖检可见病变主要集中在卵巢, 表现为卵巢充血、出血、萎缩, 蛋黄破裂甚至引起卵黄性腹膜炎^[1]。脑内表现为典型的病毒性

基金项目: 国家“973”计划(2015CB910502); 福建省自然科学基金(2016J01090); 福建农林大学杰出青年科研人才计划(xjq201605)

*通信作者。E-mail: 王松, wscookie@163.com; 陈吉龙, chenjl@im.ac.cn

收稿日期: 2018-02-07; 修回日期: 2018-03-23; 网络出版日期: 2018-04-03

脑炎病变, 血管周围出现大量炎性细胞浸润, 有“袖套现象”和“噬神经现象”^[2-3]。心脏可见心肌纤维坏死, 肝脏、脾脏和肾脏均可见不同程度坏死^[5-6]。ATMUV 可危害所有品种产蛋鸭、肉种鸭、野鸭, 近期在肉鹅、鸡和麻雀中也发现了 ATMUV 感染的可能^[8-10]。ATMUV 的流行, 在极大程度上制约了我国养禽业的发展, 给世界范围内的家禽、水禽养殖带来严重威胁。

1950 年, 坦布苏病毒首次从马来西亚的蚊虫中分离。此后, 研究者分别从马来西亚、泰国的蚊虫中分离到多株坦布苏病毒, 但因缺乏临床感染病例, 其致病性一直不明确^[11]。直到 2000 年, ATMUV 导致了马来西亚霹雳州一家肉用仔鸡场暴发病毒性脑炎和生长障碍, 这是首次发现 ATMUV 对禽类表现出致病性^[12]。2010 年 4 月以来, ATMUV 在我国多个省市地区的蛋鸭、种鸭场及马来西亚、泰国部分养鸭场中暴发流行^[1-3]。2013 年 Tang 等在山东某鸭场的工作人员体内检测到了 ATMUV 抗体, 因此 ATMUV 可能对人具有潜在威胁^[13]。近年来, 人们在 ATMUV 病原学、流行病学、临床症状及病理学等方面的研究逐步加深, 取得了丰硕的成果。随着研究的深入, 研究者开始着眼于 ATMUV 感染与宿主免疫应答的研究, 从免疫学角度探究 ATMUV 与宿主的相互作用及其机制, 以期为防控 ATMUV 病提供新的思路。

1 ATMUV 的基本结构和组成

ATMUV 呈典型的黄病毒属形态特性, 其完整的病毒粒子形态为球形, 直径为 40–50 nm。其外部包裹着脂蛋白双层囊膜, 表面有棘突, 内部是

对称的二十面体结构核衣壳蛋白, 而核衣壳内含长约 11 kb 的单股正链 RNA^[4]。ATMUV 基因组 RNA 中间仅包含一个大的开放阅读框(ORF), 只编码一个由 3425 个氨基酸组成的多聚蛋白。该多聚蛋白在病毒丝氨酸蛋白和宿主信号肽酶的作用下被分解为 3 种结构蛋白(C、prM、E)和 7 种非结构蛋白(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5)^[2,14]。其中, 前体蛋白 prM 在弗林蛋白酶的作用下水解为膜蛋白 M, 参与病毒组成^[15]。ORF 两端是 5'-UTR 和 3'-UTR, 参与病毒的复制和调控。左边 5'-UTR 长为 94 bp, 有一个 I 型帽子结构, 右边 3'-UTR 长为 618 bp, 含有 2 个重复的保守区域(CS)和 1 个不重复的保守区域, 其序列顺序为 RCS3-CS3-RCS2-CS2-CS1, 尾端含保守的 CU_{OH}, 而无 poly(A)结构。CS 特征是黄病毒属亚群的分类依据之一^[4]。

2 ATMUV 诱导宿主固有免疫应答

固有免疫系统是机体抵御病原体感染的第一道防线, 是机体早期清除病原体的主要手段。当病原微生物感染机体后, 宿主相应的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 如 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)、RIG-I 样受体(RIG-I like receptors, RLRs)和 Nod 样受体(Nod-like receptors, NLRs)等^[16-19], 特异性识别病原相关模式分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 激活固有免疫信号通路, 进而调控干扰素和炎症因子的表达, 激活 JAK-STAT 信号通路, 大量上调干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISGs)的表达, 实现抗病原体感染的作用^[20-21]。有研究报道, ATMUV 侵染小鹅肾脏能

引起 2878 个功能基因上调, 2943 个功能基因下调, 其中上调的功能基因包括了与宿主固有免疫密切相关的 IFN- α 、RIG-I、MDA5、Mx1、IL-8 等^[7]。ATMUV 不仅危害多种家禽, 对我国家禽养殖业造成巨大损失, 而且该病毒具有感染哺乳动物的可能^[22-23], 因此, 近年来越来越多的学者开始关注于 ATMUV 感染与宿主固有免疫应答之间的关系。

2.1 与 ATMUV 诱导固有免疫相关的宿主模式识别受体

TLRs 作为一类识别 PAMP 的重要受体, 在固有免疫系统中扮演着重要的角色。TLRs 在多种细胞中都有表达, 哺乳动物中目前被发现的 TLRs 有 13 种(TLR1-13), 在鸡中已经鉴定出 10 种^[24-25], 能够识别病原微生物脂多糖、核酸等成分^[26-27]。其中 TLR3 主要识别 dsRNA, 而 TLR7/8 主要识别 ssRNA^[28]。笔者实验室研究表明, ATMUV 感染宿主过程中产生的病毒基因组 ssRNA 以及在病毒复制过程中产生的病毒中间体 dsRNA 能够诱导宿主细胞 IFNs 和 ISGs 的表达上调。进一步研究显示, ATMUV 感染 CEFs 细胞后, TLR3 的表达水平显著上升, 而 TLR7 的表达量却没有明显上调, 提示 ATMUV 在复制过程中产生的中间体 dsRNA 被 TLR3 受体识别^[19]。同时, He 等发现 NLRs 家族成员 NOD-1 在识别 ATMUV 中起到了一定的作用, NOD-1 主要识别 dsRNA, 提示 NOD-1 与病毒 dsRNA 相互作用引起炎症应答^[7]。以上研究成果均为 ATMUV 在复制过程中产生的 dsRNA 可被 PRRs 识别这一猜想提供了依据。

RLRs 家族主要包括视黄酸诱导基因 I (Retinoic acid-inducible gene I, RIG-I) 表达蛋白、黑色素瘤分化相关蛋白 5 (Melanoma differentiation-

associated protein 5, MDA5)、遗传学和生理学实验室蛋白 2 (Laboratory of genetics and physiology 2, LGP2), 它们均参与了 RNA 病毒的识别^[19,29-30]。Fu 等研究表明, ATMUV 感染鸭后, 在多个器官中检测到 RIG-I、MDA5 及 IFN- α 表达量显著上升, 且在病毒感染宿主 6 h 后, IFN- α 在卵巢里的表达量达到最高^[31]。Li 等研究证实, ATMUV 感染鸭后, 早期复制迅速, 1 d 后脾脏中的含毒量可达最高, 且 RIG-I、MDA5 和 TLR3 表达水平在病毒感染早期均上调^[32]。由于鸡体内没有 RIG-I 基因^[33], 笔者实验室着重分析了 TLR3 和 MDA5 受体在 ATMUV 诱导 IFNs 表达中的作用。ATMUV 感染雏鸡或 CEFs 细胞后, TLR3 和 MDA5 受体能够被显著激活, 促进 IFN- β 、IFN- λ 及一些关键 ISGs 的高表达。然而, 在沉默 TLR3 或 MDA5 的 293T 细胞中, ATMUV 感染诱导 I 型、III 型 IFNs 的表达受到明显抑制, 这种现象在同时沉默 TLR3 和 MDA5 的细胞中更为明显, 以上研究表明 ATMUV 诱导 I 型、III 型 IFNs 的表达依赖于 TLR3 和 MDA5 介导的信号通路^[19]。TLR3 和 MDA5 等模式识别受体识别病毒入侵后, 招募接头蛋白把信息传递至 IKK 激酶家族, 导致 I- κ B 的降解和 NF- κ B 的激活, 或诱导 IRF3 和 IRF7 的磷酸化, 形成有活性的二聚体, 这些被激活的转录因子转位进入细胞核, 起始 IFNs、ISGs 等细胞因子的表达。IPS-1 (IFN- β promoter stimulator 1, VISA/MAVS/CARDIF), 是 RLRs 受体重要的信号接头蛋白, RLRs 受体与 IPS-1 通过 CARD-CARD 相互作用, 激活 NF- κ B 和 IRFs, 诱导 IFNs 的表达^[16,28]。笔者实验室研究表明, 沉默 IPS-1 的 293T 细胞感染 ATMUV 后, 其 IFNs 的表达水平明显受到抑制, 表明 IPS-1 参与了信号传递, 激活 IFNs 的表达。

接着我们发现, ATMUV 感染的 293T 细胞中 I- κ B 蛋白逐渐降解, 且 NF- κ B 抑制剂预处理的 293T 细胞在 ATMUV 感染后, IFNs 的表达明显被抑制; 我们进一步证明, 沉默 IRF3 或 IRF7 的 293T 细胞显著抑制了 ATMUV 对 IFNs 的激活作用。这些结果表明, ATMUV 感染 293T 细胞诱导 I 型和 III 型 IFNs 的表达需要 NF- κ B、IRF3 和 IRF7 的参与^[19]。Li 等研究表明, ATMUV 感染鸭后, IPS-1 表达量显著上升。过表达和沉默 IPS-1 实验证明, IPS-1 能够激活 NF- κ B 和 IRF7, 诱导 IFN- β 的大量表达, 促进下游固有免疫效应分子的产生, 从而抑制 ATMUV 的复制^[34]。另有报道发现, ATMUV NS1 蛋白可通过阻断 IPS-1 信号通路抑制宿主固有免疫应答^[35]。此外, NS1 蛋白的部分结构域与 RIG-I、MDA5 上的解旋酶结构域相似^[36], ATMUV 也可能通过模仿宿主蛋白结构域的方式帮助其拮抗机体免疫应答。以上研究证明, 宿主受到 ATMUV 感染后可迅速启动固有免疫应答, 激活宿主 RIG-I、MDA5 及 TLR3 介导的固有免疫信号通路, 召集接头蛋白及其下游的激酶来激活 NF- κ B、IRF3、IRF7, 诱导 I 型、III 型 IFNs 及抗病毒蛋白 ISGs 的表达, 从而达到抗 ATMUV 的目的。

2.2 ISGs 在抗 ATMUV 固有免疫中的作用

我们研究表明, 外源干扰素处理细胞能抑制 ATMUV 的复制^[19]。同样, Chen 等证实, ATMUV 在感染鹅或 GEFs 细胞后, I 型、II 型、III 型 IFNs 的表达量显著上升。进一步研究证明, 鹅源干扰素处理 GEFs 细胞也能降低 ATMUV 的增殖^[37]。干扰素能够诱导 2', 5'-寡腺苷酸合成酶(OAS)、干扰素诱导跨膜蛋白(IFITM)、粘病毒抗性基因(Mx) 等 ISGs 的表达来抵抗病毒的感染^[38-39]。有研究表

明, ATMUV 感染宿主后, 会引起许多 ISGs 的显著表达, 如: Mx1、OASL、PKR、IFITMs 等, 说明 ISGs 在抗 ATMUV 感染过程中扮演着重要角色^[19, 34]。

干扰素诱导的跨膜蛋白家族(Interferon-inducible transmembrane proteins, IFITMs)是一类干扰素诱导的、由宿主细胞产生的小分子抗病毒蛋白。哺乳动物和家禽已鉴定出 5 个 IFITM 基因, 分别为 IFITM1、IFITM2、IFITM3、IFITM5 和 IFITM10^[40]。IFITM1、IFITM2 和 IFITM3 是免疫相关基因, 具有广泛的抗病毒效果, 干扰素刺激能诱导它们的表达。IFITMs 蛋白家族具有独特的抗病毒机制及广谱抗病毒活性, 现已证实 IFITMs 对登革热病毒、西尼罗河病毒、流感病毒、埃博拉病毒、冠状病毒、呼肠孤病毒、艾滋病毒等都具有较好的抗病毒效果^[41-45]。我们研究发现, 无论是体内或体外实验, ATMUV 感染宿主后, 都能显著诱导 IFITMs (IFITM1、IFITM2、IFITM3)表达。ATMUV 感染稳定过表达或沉默 IFITMs 的 DF-1 细胞系的实验结果表明, IFITM1、IFITM3 能显著抑制 ATMUV 在宿主细胞中的增殖^[39]。而且, Wang 等研究表明, 鹅感染 ATMUV 后, 其 IFITM1 和 IFITM3 的表达水平都显著升高^[46]。以上结果说明, IFITMs 能有效地发挥抗 ATMUV 的作用。另外, ATMUV 感染鹅会诱导 OASL 的大量表达^[47]。Chen 等实验证明, 鹅源干扰素处理同时沉默 Mx1 和 OASL 的 GEFs 细胞系能促进 ATMUV 的增殖, 说明 OASL、Mx1 在抗 ATMUV 感染过程中扮演着重要角色^[37]。以上研究结果为研发抗 ATMUV 的新药物提供了参考依据。而且, 使用细胞因子作为疫苗佐剂的例子屡见不鲜, 例如炎性细胞因子 IL-1 作为破伤风疫苗佐剂、粒细胞-巨噬细胞集

落刺激因子(GM-CSF)作为流感疫苗佐剂,均能有效增强细胞免疫应答。因此,笔者认为,在上述研究成果的基础上,可进一步进行新型 ATMUV 疫苗佐剂的研发,增强 ATMUV 疫苗免疫效应。

3 ATMUV 诱导宿主适应性免疫应答

病毒在侵入机体后可通过多种方式增殖,与此同时,机体也发挥着特有的防御功能,保护自身免遭病毒的侵害。这一过程纷繁复杂,固有免疫应答和适应性免疫应答相互交织。当固有免疫不能有效阻止病毒增殖时,机体对病毒的特异性免疫逐渐形成,大大提高机体抗感染能力。适应性免疫是机体免疫系统在抗原刺激下产生特异性抗体和免疫效应细胞的过程。近年来,研究者对 ATMUV 感染诱导的宿主适应性免疫应答进行了初步研究,为 ATMUV 病的免疫防治提供了依据。研究表明,ATMUV 能够损伤免疫器官。我们在进行 ATMUV 攻毒雏鸭实验后发现,ATMUV 病毒在脾脏中含量最高,在肾脏和法氏囊也检测到了病毒抗原^[19]。Li 等在 ATMUV 感染雏鸭的病理组织学实验中发现,1 周龄和 3 周龄鸭感染 ATMUV 后 3–5 d 均可看到明显的淋巴细胞坏死,随着感染时间推移,可见脾脏骨髓淋巴细胞数量显著下降,伴有出血及异嗜性粒细胞浸润^[34]。

适应性免疫应答包括细胞免疫应答和体液免疫应答两个方面。细胞免疫主要由 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞参与执行,在主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)与抗原多肽相结合形成 MHC-抗原复合物后,由 T 淋巴细胞进行识别,导致 T 淋巴细胞活化、增殖、分化成效应 T 细胞并杀伤靶细胞。在细胞免疫的过程中,T 淋巴细胞同时表达 MHC-I 和 MHC-II 类

分子,进而分化成 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞^[48]。Li 等研究发现,ATMUV 感染鸭后,MHC-I 在脑和脾脏中均上调表达,MHC-II 则不同,仅在脑中上调表达,在脾脏中下调表达,说明 MHC-I 和 MHC-II 在抗 ATMUV 感染中起到了一定的作用。2017 年,He 等研究也证实了 ATMUV 感染鹅后,鹅脾脏内 MHC-I 显著上调,但 MHC-II 却下调表达,同时提出脾脏中的 MHC-II 下调可能是 ATMUV 逃避宿主免疫应答的一种方式^[7,32]。2015 年,Zhou 等在 ATMUV 感染鹅实验中发现,攻毒组的肝脏和脾脏中发现大量 CD8⁺ T 细胞,而在小肠、肺脏、心脏中 CD8⁺ T 细胞的含量较少,且 CD4⁺ T 细胞在肝脏、脾脏和肺脏中也有少量发现。此外,ATMUV 在器官中的病毒载量分布情况与 CD8⁺ T 细胞分布情况一致,此现象可能与病毒亲嗜器官中 IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6 的高表达有关。有研究表明,ATMUV 感染后,IFN- γ 、IL-2、IL-1 β 和 IL-6 显著上调,但是,这些细胞因子在不同器官的表达水平存在差别,这可能与免疫相关细胞在各组织中的分布和 ATMUV 对器官的亲嗜性不同相关^[49]。体液免疫主要是由 B 细胞抗原受体(B cell receptor, BCR)识别抗原,进而活化、增殖并分化成浆细胞,浆细胞产生抗体,抗体通过中和抗原以将其清除。有研究报道,多数黄病毒是以其病毒囊膜蛋白 E 来诱导机体产生抗体^[50],然而关于 ATMUV 诱导的宿主体液免疫应答还有待进一步的研究。以上研究结果提示 ATMUV 在诱导宿主细胞免疫应答的过程中起着重要的作用,深入研究 ATMUV 感染与宿主适应性免疫的关系能为防治 ATMUV 病提供新思路和新方向。

现今,ATMUV 病的免疫防治已成为研究热点。国内外开展了许多关于 ATMUV 的灭活疫苗、

弱毒疫苗、基因工程苗, 以及单克隆抗体、疫苗佐剂的研究, 并取得一定成果。2016年, 北京农林科学院申报的 ATMUV 灭活疫苗(HB 株)获得农业部颁发的国家一类新兽药证书, 此灭活苗是全球首个预防坦布苏病毒病的疫苗。同年, 齐鲁动物保健品有限公司申报的 ATMUV 弱毒疫苗(WF100 株)也获得了农业部颁发的国家一类新兽药证书。目前也有使用 ATMUV 攻毒尿囊液制备灭活油乳苗, 可明显提高宿主的体液免疫和细胞免疫应答。

基因工程苗是疫苗研发的未来趋势。ATMUV 的前膜蛋白(prM)与病毒的组装有关, 具有良好的抗原表位, 可以诱导机体产生保护性抗体, 而病毒的包膜蛋白(E)含有群特异性和型特异性抗原表位, 可诱导机体产生中和抗体, 是疫苗和诊断试剂的首选蛋白^[51]。Zou 等以鸭瘟病毒为载体, 插入病毒主要表面抗原 E 蛋白, 研制了一株抗鸭瘟病毒及鸭坦布苏病毒重组疫苗^[52]。另外, ATMUV 的 NS5 蛋白比较保守, 其 N 端的 I 型帽子结构(m1GpppAmpGp)与 MTase 活性密切相关, 且 MTase 一旦发生突变, 病毒的复制能力明显下降, 故 MTase 活性区域可作为 ATMUV 基因工程苗的一个潜在靶点^[53]。虽然以上成果尚在实验室研究阶段, 但这些成果对于抗原表位的研究作用很大, 可为基因工程苗的研发打下基础。

4 小结和展望

综上所述, 在固有免疫应答方面, ATMUV 感染机体后可迅速激活 TLRs、RIG-I 和 MDA5 介导的固有免疫信号通路, 激活 NF- κ B、IRF3、IRF7 等转录因子, 进而诱导 I 型、III型干扰素和相关

抗病毒蛋白的表达。在适应性免疫应答方面, ATMUV 感染机体后诱导了 II 型干扰素的产生, 促进 CD8⁺T 细胞的增殖和分化, 激活 B 细胞产生抗体, 同时激活巨噬细胞吞噬病毒。在 ATMUV 感染过程中其他细胞因子(如 IL-1 β 、IL-6)也明显上调, 在抗病毒免疫中得以发挥作用。ATMUV 作为一种引起养禽业重大经济损失的新发病原, 严重危害了我国乃至全球养禽业的蓬勃发展, 为经济发展及动物健康带来了极大的威胁。提高易感宿主自身的免疫能力是预防 ATMUV 病的关键所在。随着对 ATMUV 分子结构、抗原特性、互作蛋白的进一步研究, 国内外研究者对于 ATMUV 感染机制的认识逐步加深。基于这些机制的研究, 近几年相关疫苗、佐剂、抗病毒药物等免疫防治手段的研发开始兴起, 并逐渐成为研究的一大热点。但是, 对于抗 ATMUV 感染固有免疫信号转导通路及相关调控分子的研究较为匮乏, 由 ATMUV 诱导的宿主适应性免疫机制也仍然存在着许多值得深入探讨的问题: 如研究 ATMUV 蛋白与宿主免疫系统相互作用机制; 探究 ATMUV 介导的宿主体液免疫应答机制; 研究 ATMUV 免疫逃逸机制等。对 ATMUV 感染与宿主免疫应答的深入研究, 将有助于我们全面了解 ATMUV 的致病机理, 并为研发新的抗病毒药物提供有价值的理论参考。

参考文献

- [1] Su JL, Li S, Hu XD, Yu XL, Wang YY, Liu PP, Lu XS, Zhang GZ, Hu XY, Liu D, Li XX, Su WL, Lu H, Mok NS, Wang PY, Wang M, Tian KG, Gao GF. Duck egg-drop syndrome caused by BYD virus, a new Tembusu-related flavivirus. *PLoS One*, 2011, 6(3): 18106.
- [2] Homonnay ZG, Kovacs EW, Bányai K, Albert M, Fehér E,

- Mató T, Tatár-Kis T, Palya V. Tembusu-like flavivirus (Perak virus) as the cause of neurological disease outbreaks in young Pekin ducks. *Avian Pathology*, 2014, 43(6): 552–560.
- [3] Thontiravong A, Ninvilai P, Tunterak W, Nonthabenjawan N, Chaiyavong S, Angkabkingkaew K, Mungkundar C, Phuengpho W, Oraveerakul K, Amonsin A. Tembusu-related flavivirus in ducks, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(12): 2164–2167.
- [4] Tang Y, Diao Y, Gao X, Yu C, Chen L, Zhang D. Analysis of the complete genome of Tembusu virus, a flavivirus isolated from ducks in China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2012, 59(4): 336–343.
- [5] Yan PX, Zhao YS, Zhang X, Xu DW, Dai XG, Teng QY, Yan LP, Zhou JW, Ji XW, Zhang SM, Liu GQ, Zhou YJ, Kawaoka Y, Tong GZ, Li ZJ. An infectious disease of ducks caused by a newly emerged Tembusu virus strain in mainland China. *Virology*, 2011, 417(1): 1–8.
- [6] Cao ZZ, Zhang C, Liu YH, Ye WC, Han WJ, Ma GM, Zhang DD, Xu F, Gao XH, Tang Y, Shi SH, Wan CH, Zhang C, He B, Yang MJ, Lu XH, Huang Y, Diao YX, Ma XJ, Zhang DB. Tembusu virus in ducks, China. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(10): 1873–1875.
- [7] He Y, Wang AQ, Chen S, Wu Z, Zhang JY, Wang MS, Jia RY, Zhu DK, Liu MF, Yang Q, Wu Y, Sun KF, Chen XY, Cheng AC. Differential immune-related gene expression in the spleens of duck Tembusu virus-infected goslings. *Veterinary Microbiology*, 2017, 212: 39–47.
- [8] Liu M, Chen SY, Chen YH, Liu CG, Chen SL, Yin XC, Li G, Zhang Y. Adapted Tembusu-like virus in chickens and geese in China. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(8): 2807–2809.
- [9] Tang Y, Diao Y, Yu C, Gao X, Ju X, Xue C, Liu X, Ge P, Qu J, Zhang D. Characterization of a Tembusu virus isolated from naturally infected house sparrows (*Passer domesticus*) in Northern China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2013, 60(2): 152–158.
- [10] Huang XM, Han KK, Zhao DM, Liu YZ, Zhang JF, Niu HM, Zhang KN, Zhu JN, Wu DM, Gao L, Li Y. Identification and molecular characterization of a novel flavivirus isolated from geese in China. *Research in Veterinary Science*, 2013, 94(3): 774–780.
- [11] Platt GS, Way HJ, Bowen ETWB, Simpson DIH, Hill MN, Kamath S, Bendell PJE, Heathcote OHU. Arbovirus infections in Sarawak, October 1968–February 1970 Tembusu and Sindbis virus isolations from mosquitoes. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 1975, 69(1): 65–71.
- [12] Kono Y, Tsukamoto K, Abd Hamid M, Darus A, Lian TC, Sam LS, Yok CN, Di KB, Lim KT, Yamaguchi S, Narita M. Encephalitis and retarded growth of chicks caused by Sitiawan virus, a new isolate belonging to the genus Flavivirus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2000, 63(1/2): 94–101.
- [13] Tang Y, Gao X, Diao Y, Feng Q, Chen H, Liu X, Ge P, Yu C. Tembusu virus in human, China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2013, 60(3): 193–196.
- [14] Liu PP, Lu H, Li S, Wu Y, Gao GF, Su JL. Duck egg drop syndrome virus: an emerging Tembusu-related flavivirus in China. *Science China Life Sciences*, 2013, 56(8): 701–710.
- [15] Yun TN, Zhang DB, Ma XJ, Cao ZZ, Chen L, Ni Z, Ye WC, Yu B, Hua JG, Zhang Y, Zhang C. Complete genome sequence of a novel flavivirus, duck Tembusu virus, isolated from ducks and geese in China. *Journal of Virology*, 2012, 86(6): 3406–3407.
- [16] Cao XT. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 2016, 16(1): 35–50.
- [17] Liu J, Qian C, Cao XT. Post-translational modification control of innate immunity. *Immunity*, 2016, 45(1): 15–30.
- [18] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 2010, 140(6): 805–820.
- [19] Chen SL, Luo GF, Yang Z, Lin SC, Chen SY, Wang S, Goraya MU, Chi XJ, Zeng XC, Chen JL. Avian Tembusu virus infection effectively triggers host innate immune response through MDA5 and TLR3-dependent signaling pathways. *Veterinary Research*, 2016, 47(1): 74.
- [20] Metz P, Reuter A, Bender S, Bartenschlager R.

- Interferon-stimulated genes and their role in controlling hepatitis C virus. *Journal of Hepatology*, 2013, 59(6): 1331–1341.
- [21] Stark GR, Darnell JE, Jr. The JAK-STAT pathway at twenty. *Immunity*, 2012, 36(4): 503–514.
- [22] Li S, Li XX, Zhang LJ, Wang YY, Yu XL, Tian KG, Su WL, Han B, Su JL. Duck tembusu virus exhibits neurovirulence in BALB/c mice. *Virology Journal*, 2013, 10(1): 260.
- [23] Liu ZL, Ji YH, Huang XH, Fu YG, Wei JZ, Cai XP, Zhu QY. An adapted duck Tembusu virus induces systemic infection and mediates antibody-dependent disease severity in mice. *Virus Research*, 2013, 176(1/2): 216–222.
- [24] Brownlie R, Allan B. Avian toll-like receptors. *Cell and Tissue Research*, 2011, 343(1): 121–130.
- [25] Karpala AJ, Lowenthal JW, Bean AG. Activation of the TLR3 pathway regulates IFN β production in chickens. *Developmental and Comparative Immunology*, 2008, 32(4): 435–444.
- [26] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 2010, 11(5): 373–384.
- [27] Lester SN, Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(6): 1246–1264.
- [28] Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International Immunology*, 2009, 21(4): 317–337.
- [29] Loo YM, Gale M, Jr. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity*, 2011, 34(5): 680–692.
- [30] Yu M, Levine SJ. Toll-like receptor 3, RIG-I-like receptors and the NLRP3 inflammasome: key modulators of innate immune responses to double-stranded RNA viruses. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2011, 22(2): 63–72.
- [31] Fu GH, Chen CT, Huang Y, Cheng LF, Fu QL, Wan CH, Shi SH, Chen HM, Liu W. Comparative analysis of transcriptional profiles of retinoic-acid-induced gene I-like receptors and interferons in seven tissues from ducks infected with avian Tembusu virus. *Archives of Virology*, 2016, 161(1): 11–18.
- [32] Li N, Wang Y, Li R, Liu JY, Zhang JZ, Cai YM, Liu SD, Chai T, Wei LM. Immune responses of ducks infected with duck Tembusu virus. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 425.
- [33] Tang Y, Yeh YT, Chen H, Yu CM, Gao XH, Diao YX. Comparison of four molecular assays for the detection of Tembusu virus. *Avian Pathology*, 2015, 44(5): 379–385.
- [34] Li N, Hong TQ, Li R, Wang Y, Guo MJ, Cao ZX, Cai YM, Liu SD, Chai T, Wei LM. Cherry valley ducks mitochondrial antiviral-signaling protein-mediated signaling pathway and antiviral activity research. *Frontiers in Immunology*, 2016, 7: 377.
- [35] Wang JY, Lei CQ, Ji YH, Zhou HB, Ren YJ, Peng QQ, Zeng Y, Jia Y, Ge JY, Zhong B, Li Y, Wei JZ, Shu HB, Zhu QY. Duck Tembusu virus nonstructural protein 1 antagonizes IFN- β signaling pathways by targeting VISA. *Journal of Immunology*, 2016, 197(12): 4704–4713.
- [36] Akey DL, Brown WC, Konwerski JR, Ogata CM, Smith JL. Use of massively multiple merged data for low-resolution S-SAD phasing and refinement of flavivirus NS1. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 2014, 70(10): 2719–2729.
- [37] Chen S, Zhang W, Wu Z, Zhang JY, Wang MS, Jia YR, Zhu DK, Liu MF, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Chen XY, Cheng AC. Goose Mx and OASL play vital roles in the antiviral effects of type I, II, and III interferon against newly emerging avian flavivirus. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 1006.
- [38] Ouyang J, Zhu XM, Chen YH, Wei HT, Chen QH, Chi XJ, Qi BM, Zhang LF, Zhao Y, Gao GF, Wang GS, Chen JL. NRAV, a long noncoding RNA, modulates antiviral responses through suppression of interferon-stimulated gene transcription. *Cell Host & Microbe*, 2014, 16(5): 616–626.
- [39] Chen SL, Wang L, Chen JY, Zhang LL, Wang S, Goraya MU, Chi XJ, Na Y, Shao WH, Yang Z, Zeng XC, Chen SY, Chen JL. Avian interferon-inducible transmembrane protein family effectively restricts Avian Tembusu virus infection. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 672.
- [40] Bailey CC, Zhong GC, Huang IC, Farzan M. IFITM-family proteins: the cell's first line of antiviral defense. *Annual*

- Review of Virology*, 2014, 1: 261–283.
- [41] Smith SE, Gibson MS, Wash RS, Ferrara F, Wright E, Temperton N, Kellam P, Fife M. Chicken interferon-inducible transmembrane protein 3 restricts influenza viruses and lyssaviruses *in vitro*. *Journal of Virology*, 2013, 87(23): 12957–12966.
- [42] Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, Radoshitzky SR, Becker MM, Chiang JJ, Brass AL, Ahmed AA, Chi X, Dong L, Longobardi LE, Boltz D, Kuhn JH, Elledge SJ, Bavari S, Denison MR, Choe H, Farzan M. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(1): 1001258.
- [43] Yu JY, Li MH, Wilkins J, Ding SL, Swartz TH, Esposito AM, Zheng YM, Freed EO, Liang C, Chen BK, Liu SL. IFITM proteins restrict HIV-1 infection by antagonizing the envelope glycoprotein. *Cell Reports*, 2015, 13(1): 145–156.
- [44] Brass AL, Huang IC, Benita Y, John SP, Krishnan MN, Feeley EM, Ryan BJ, Weyer JL, Van Der Weyden L, Fikrig E, Adams DJ, Xavier RJ, Farzan M, Elledge SJ. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell*, 2009, 139(7): 1243–1254.
- [45] Narayana SK, Helbig KJ, McCartney EM, Eyre NS, Bull RA, Eltahla A, Lloyd AR, Beard MR. The interferon-induced transmembrane proteins, IFITM1, IFITM2, and IFITM3 inhibit Hepatitis C virus entry. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(43): 25946–25959.
- [46] Wang AQ, Sun LP, Wang MS, Jia RY, Zhu DK, Liu MF, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Chen XY, Cheng AC, Chen S. Identification of IFITM1 and IFITM3 in goose: gene structure, expression patterns, and immune responses against Tembusu virus infection. *BioMed Research International*, 2017, 2017: 5149062.
- [47] Yang C, Liu F, Chen S, Wang MS, Jia RY, Zhu DK, Liu MF, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Chen XY, Cheng AC. Identification of 2'-5'-oligoadenylate synthetase-like gene in goose: gene structure, expression patterns, and antiviral activity against newcastle disease virus. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2016, 36(9): 563–572.
- [48] Brzostek J, Gascoigne NRJ. Thymic origins of T cell receptor alloreactivity. *Transplantation*, 2017, 101(7): 1535–1541.
- [49] Zhou H, Chen S, Wang MS, Jia RY, Zhu DK, Liu MF, Liu F, Yang Q, Wu Y, Sun KF, Chen XY, Jing B, Cheng AC. Antigen distribution of TMUV and GPV are coincident with the expression profiles of CD8 α -positive cells and goose IFN γ . *Scientific Reports*, 2016, 6: 25545.
- [50] Vratskikh O, Stiasny K, Zlatkovic J, Tsouchnikas G, Jarmer J, Karrer U, Roggendorf M, Roggendorf H, Allwinn R, Heinz FX. Dissection of antibody specificities induced by yellow fever vaccination. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(6): e1003458.
- [51] Chen PC, Liu JX, Jiang YP, Zhao YH, Li QM, Wu L, He XJ, Chen HL. The vaccine efficacy of recombinant duck enteritis virus expressing secreted E with or without PrM proteins of duck tembusu virus. *Vaccine*, 2014, 32(41): 5271–5277.
- [52] Zou Z, Hu Y, Liu ZG, Zhong W, Cao HZ, Chen HC, Jin ML. Efficient strategy for constructing duck enteritis virus-based live attenuated vaccine against homologous and heterologous H5N1 avian influenza virus and duck enteritis virus infection. *Veterinary Research*, 2015, 46: 42.
- [53] Liu LH, Dong HP, Chen H, Zhang J, Ling H, Li Z, Shi PY, Li HM. Flavivirus RNA cap methyltransferase: structure, function, and inhibition. *Frontiers in Biology*, 2010, 5(4): 286–303.

Host immune response induced by avian Tembusu virus infection

Yuan Liao¹, Binxiang Cai¹, Yuhai Chen², Song Wang^{1*}, Jilong Chen^{1,2*}

¹ Key Laboratory of Fujian-Taiwan Animal Pathogen Biology, College of Animal Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

² CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Avian Tembusu virus (ATMUV) is a highly pathogenic virus infecting variety kinds of laying birds, resulting in appetite decreases and significant reduction in egg production. At the last stage, the affected animals may have neurological symptoms, such as muscle paralysis and dystaxia. In recent years, ATMUV spreads quickly in many provinces in China and has caused huge economic loss in poultry industry all over the world. Host innate immunity is the first line to defend against the infection of pathogens at early stages. Innate immune response is the nature ability of the organism to fight against the pathogenic microorganisms. On the other hand, adaptive immunity is the process by which the immune system produces specific antibodies by B cells and cellular immune response by T cells. Adaptive immunity is the key components of host immune system that contribute to the resistance to pathogens and are the basis of immunization. In this review, we will discuss host immune response to ATMUV infection and highlight the mechanisms by which ATMUV induces the host innate and adaptive immunity.

Keywords: avian Tembusu virus, innate immunity, adaptive immunity, virus-host interaction

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Basic Research Program of China (2015CB910502), by the Natural Science Foundation of Fujian Province of China (2016J01090) and by the Program for Outstanding Youth Scientific Research of Fujian Agriculture and Forestry University (xjq201605)

*Corresponding authors. E-mail: Song Wang, wscookie@163.com; Jilong Chen, chenjl@im.ac.cn

Received: 7 February 2018; Revised: 23 March 2018; Published online: 3 April 2018