



## 禽沙门菌诱导宿主免疫应答的特性

尹超<sup>1,2,3</sup>, 徐黎娟<sup>1,2,3</sup>, 李求春<sup>1,2,3\*</sup>, 潘志明<sup>1,2,3</sup>, 耿士忠<sup>1,2,3</sup>, 焦新安<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>江苏省人兽共患病学重点实验室, 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

<sup>2</sup>农业部农产品质量安全生物性危害因子(动物源)控制重点实验室, 江苏 扬州 225009

<sup>3</sup>教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009

**摘要:** 沙门菌病(Salmonellosis)是全世界最普遍的食源性疾病之一, 不仅对养殖业造成经济损失, 还对人类安全构成威胁。禽沙门菌感染肠道后, 可诱导肠上皮细胞表达多种 TLRs 和炎症反应的发生, 在分泌的趋化因子作用下免疫效应细胞迁移到感染部位。细菌通过肠上皮细胞屏障后被巨噬细胞或树突状细胞吞噬, 其中巨噬细胞是沙门菌的主要定殖场所。天然免疫系统将抗原递呈给淋巴细胞后, 机体能够在2–3周内通过以 Th1 为主的免疫应答清除在肠道和深层组织中的沙门菌。而宿主特异性血清型鸡白痢沙门菌从肠道侵入后, 在肝脾和其他器官中定殖, 进而引发全身感染。早期感染阶段不会引起肠道炎症反应, 主要诱导以 Th2 为主的免疫应答, 而 Th1 型应答相对较弱, 有利于鸡白痢沙门菌在机体内的持续存在和感染。本文围绕禽沙门菌的致病机理和免疫应答特性进行阐述, 尤其对鸡白痢沙门菌免疫逃逸和持续载菌的特性进行深入分析, 为禽沙门菌病的防控提供新靶标和新见解。

**关键词:** 沙门菌, 分子免疫, 禽类, 免疫应答

禽沙门菌病主要包括鸡白痢、禽伤寒和禽副伤寒, 现有的研究主要集中在含有鞭毛的宿主谱广的副伤寒沙门菌各血清型(如肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌等), 对它们的毒力岛及免疫应答特征有了较系统深入的研究<sup>[1–3]</sup>, 但对无鞭毛的宿主限制性鸡白痢沙门菌免疫研究相对匮乏。鸡白痢是由

宿主限制性的鸡白痢沙门菌(*Salmonella enterica* serovar Pullorum)引起的疾病<sup>[4]</sup>, 对我国养禽业的危害极大, 造成了巨大的经济损失。欧美等发达国家通过采用生物安全控制和净化措施的防控对策有效控制了鸡白痢病的发生, 即通过淘汰感染鸡(群), 对非感染鸡群做连续性监测并切断各种传

基金项目: 国家自然科学基金(31730094, 31320103907); 国家重点研究开发项目(2017YFD0500705); 江苏省农业科技自主创新基金[CX(16)1028]; 江苏省高校重点学科建设项目(PAPD)

\*通信作者。Tel: +86-514-87997217; Fax: +86-514-87991747; E-mail: 李求春, qcli@yzu.edu.cn, 焦新安, jiao@yzu.edu.cn

收稿日期: 2018-06-05; 修回日期: 2018-07-23; 网络出版日期: 2018-11-28

播途径,但是由于代价昂贵,在我国及其他发展中国家实际实施难度较大<sup>[4-6]</sup>。虽然鸡白痢沙门菌在欧美等发达国家已得到较好的控制,但在小规模散养鸡及野禽中仍有零星病例报道<sup>[4]</sup>。

近年来,对宿主天然免疫与获得性免疫的相互关系及其在抗沙门菌感染中的作用有了许多新认识。大部分研究以小鼠和人为主要对象,虽然对鸡抵抗副伤寒沙门菌病的免疫学研究不断深入,但是对于抗鸡白痢沙门菌的免疫研究刚刚起步。这种基础研究的整体滞后,不利于禽沙门菌病防控新技术与策略的发展。本文将比较不同血清型沙门菌引起免疫应答特征上的差异,主要从沙门菌的分子免疫机制、沙门菌与宿主细胞互作机制、沙门菌的免疫应答规律及其机制三方面进行综合阐述,为禽沙门菌病的防控提供免疫学基础。

## 1 沙门菌的分子免疫机制研究

肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌等血清型感染的宿主谱较广,它们对鸡的胃肠道感染特别是盲肠感染可能会持续数月。除了新发感染,这些血清型沙门菌引发的全身性感染大多是短暂的,而且只引起很少的临床病患。相比较,鸡白痢沙门菌可引发鸡的全身性感染。鸡白痢对1周龄内的雏鸡致死率高,而对1周龄以上鸡的致死率则逐渐降低。不仅如此,成年鸡在感染鸡白痢沙门菌后往往会表现为持续带菌状态,导致母鸡生殖道感染从而诱发卵巢病变,引发该病的垂直传播<sup>[4,7]</sup>。

沙门菌经口服感染后,利用众多的致病因子帮助其定殖在体内肠道、侵入肠上皮细胞、在巨噬细胞和其他免疫细胞里存活和扩增。宿主与病原菌的相互作用结果与宿主对沙门菌的敏感性和沙门菌的血清型紧密相关。沙门菌感染的类型主

要有以下三种:(1)沙门菌在肝脏和脾脏巨噬细胞内的存活和复制;(2)引发胃肠炎;(3)在肠道内定殖,但不引起疾病。经口服感染后,沙门菌在侵入黏膜上皮屏障之前需要黏附和侵入肠道上皮细胞。细菌表面的菌毛可以介导细菌对上皮细胞的附着和定殖,且I型菌毛的黏附蛋白FimH可以介导鼠伤寒沙门菌被小鼠的树突状细胞(DC)摄取<sup>[8]</sup>。目前对鸡白痢沙门菌在肠道定殖的毒力因子研究相对较少,但是对肠炎沙门菌的研究表明,在13个菌毛位点中,除了pegA操纵子在肠道定殖过程中发挥重要作用,大部分位点都与其他血清型相似<sup>[9]</sup>。相比较,鸡白痢沙门菌和鸡伤寒沙门菌并不能对肠道进行有效的定殖,却能引发全身性感染。因此与肠炎沙门菌/鼠伤寒沙门菌相比,菌毛操纵子的作用在鸡白痢沙门菌和鸡伤寒沙门菌中可能发挥不同的作用。

鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌感染家禽后都会引起强烈的炎症反应,肠道和上皮细胞的IL-1和IL-6的分泌水平显著提高。鞭毛蛋白的亚基FliC能激活TLR5信号通路,促进IL-6、TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 等促炎性细胞因子的分泌<sup>[10]</sup>。剧烈的炎症反应可能会限制细菌对肠道的感染,而鸡白痢沙门菌和鸡伤寒沙门菌诱发肠道炎症的能力较弱,细菌可以在宿主体内造成全身扩散和感染<sup>[11]</sup>。沙门菌的LPS在调节免疫应答中具有多重效应。LPS是NO分泌的有效诱导剂,在感染早期能刺激鸡脾脏细胞IL-6、IL-8、IL-18和IFN- $\gamma$ 的表达<sup>[12]</sup>。然而,利用LPS刺激禽巨噬细胞系HD-11和单核细胞衍生的巨噬细胞时,能诱导细胞分泌抑炎性细胞因子IL-10<sup>[13]</sup>。研究显示抑炎性细胞因子在沙门菌感染后期产生,此时炎症得到了控制,而早前感染过程中炎性细胞因子可能由受LPS刺激的上皮细胞产生。巨噬细胞是沙门菌在宿主内存活和持续存在的场所<sup>[14]</sup>,鸡

白痢沙门菌可以在鸡脾脏巨噬细胞持续存在超过 40 周, 在隐形感染的鸡中这种存在方式对细菌显得尤为重要。沙门菌在巨噬细胞内存活的机制与 III 型分泌系统 2 (T3SS-2) 紧密相关。

当沙门菌被巨噬细胞吞噬后, 在细胞内形成修饰的吞噬体, 成为沙门菌囊泡(SCV)。在细胞内存在多种杀死 SCV 的方式, 包括呼吸链中产生的活性氧(ROS)和 iNOS 合成过程中的中间体 RNI。但是沙门菌的 T3SS-2 可以帮助其从 SCV 中排出 NADPH 的膜成分——细胞色素 b558, 从而阻止 NADPH 氧化酶复合物的装配, 保护 SCV 中的沙门菌免受胞内氧化物对其造成的损伤<sup>[15]</sup>。也有观点认为 SPI-2 通过干扰含氧化酶的囊泡运送至 SCV 来破坏 NADPH 氧化物复合体的装配<sup>[16]</sup>。在感染了缺失 SPI-2 的鼠伤寒沙门菌的小鼠巨噬细胞中, 可明显观察到 iNOS 的有效定位, 但是在感染野生株后, 在 SCV 中无法观察到 iNOS<sup>[17]</sup>。进一步研究显示 iNOS 在鼠伤寒沙门菌感染的小鼠 J774 巨噬细胞中表达量下降的原因是胞内的 SPI-2 效应蛋白抑制了 NF- $\kappa$ B 和 AP-1 蛋白的活化<sup>[18]</sup>。此外 SPI-2 的另一效应蛋白 SpiC 可干扰胞内的运输机制并抑制 SCV 与溶酶体和内体的融合。已经证实 T3SS-2 介导的肠道沙门菌在巨噬细胞内的存活和增殖在引起鸡全身感染和胃肠道定殖中起重要作用。鸡伤寒沙门菌需要 T3SS-2 帮助其在巨噬细胞内生存才得以发挥其完整的毒力<sup>[19]</sup>。而 T3SS-1 突变的鸡伤寒沙门菌依然能够有效地感染禽巨噬细胞并在胞内持续存在<sup>[19]</sup>。同样, 鸡白痢沙门菌 T3SS-2 突变株毒力显著减弱, 且比野生株更快地从宿主的肝脾中清除, 但是 T3SS-1 并不是全身性感染所必需的因子<sup>[20]</sup>。鼠伤寒沙门菌引起的全身感染也依赖于 T3SS-2, 而 T3SS-1 在全身感染或胃肠道定殖中不是绝对需要的<sup>[21]</sup>。

宿主通过模式识别受体(PRRs)识别病原相关分子, 激活天然免疫应答和获得性免疫应答, 这在宿主防御病原入侵中发挥了重要的作用。然而沙门菌进化出多种免疫逃逸策略, 使其能在宿主体内定殖并持续存活。一方面, 沙门菌通过位于其表面或分泌出的蛋白酶作用, 减弱或抑制 TLRs-NF- $\kappa$ B 信号通路的活化, 降低炎性细胞因子的分泌及炎症的产生, 进而避免天然免疫应答的激活<sup>[22]</sup>。另一方面, 机体获得性免疫应答的激活主要依赖于 DCs 递呈抗原作用, 与巨噬细胞和单核细胞一样, DCs 也可作为沙门菌的生存和传播载体。被吞噬的沙门菌形成 SCV, 同时 SPI-2 分泌的效应蛋白能够阻止 SCV 和溶酶体的融合来避免细菌被降解, 破坏细胞的功能, 从而影响 DCs 的抗原递呈能力并抑制 T 细胞的增殖<sup>[10]</sup>。近期有报道一种新的免疫逃避机制, 程序性死亡配体 1 (PD-L1)通过 PD-1 受体与活化的 T 细胞结合, 停止 T 细胞活化, 沙门菌与 IFN- $\gamma$  协同诱导产生的 PD-L1 降低了活化的 T 细胞细胞因子产生<sup>[23]</sup>。沙门菌的免疫逃逸策略丰富又灵活多变, 其分子免疫机制仍需深入的研究。

## 2 沙门菌与宿主细胞互作机制研究

沙门菌依赖于众多毒力基因之间的协同作用引起宿主发病, 而毒力基因在基因组上常以成簇的形式存在, 这些特定的区域形成了沙门菌的毒力岛(*Salmonella* pathogenicity island, SPI)。目前在沙门菌中存在 10 多个毒力岛, 研究较为透彻且在沙门菌致病过程中发挥重要作用的是 SPI1 和 SPI2。而在鸡白痢沙门菌中存在 SPI6 和 SPI19, 其中 SPI19 编码的 VI 型分泌系统(T6SS)在鸡伤寒沙门菌定殖过程中发挥重要的作用, 有助于细菌在巨噬细胞中的存活, 但不对细胞产生毒性。但

是将 SPI19 导入肠炎沙门菌反而降低细菌在禽体内的定殖<sup>[24-25]</sup>。

近期对鸡白痢沙门菌的比较基因组学分析结果显示, 鸡白痢沙门菌中假基因化严重可能影响了细菌的毒力与代谢, 使细菌无法造成胃肠炎, 反而在特定的宿主内诱导全身性感染<sup>[26-27]</sup>。也有研究认为这些假基因在细菌中也发生转录, 因此它们可能在细菌感染过程中也发挥重要的作用<sup>[16,28]</sup>。本实验室对 100 多株鸡白痢沙门菌的基因组比较分析推测鸡白痢沙门菌可能通过水平转移获得了新基因簇和假基因化共同决定了鸡白痢沙门菌的宿主特异性和致病特征。

近年来, 在宿主细胞对鸡白痢沙门菌感染的应答方面研究较多, 取得了一定的进展。有研究显示鸡白痢沙门菌感染 HD-11 细胞可以活化 NOD1 受体, 诱导下游信号分子 RIPK2、NF- $\kappa$ B/p65、MAPK11/p38 的表达和细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-8 的表达。抑制 NOD1 的活化则会下调 RIPK2、MAPK11 和 IL-8 的表达, 对 NF- $\kappa$ B/p65 和 IL-1 $\beta$  的表达无影响<sup>[29]</sup>。深入研究表明鸡白痢沙门菌的感染可以活化 NLRC5 (NLRs 的蛋白之一), 从而上调 NF- $\kappa$ B 的表达<sup>[30]</sup>。细菌铁蛋白(Bfr)是鸡白痢沙门菌诱导体液免疫应答的重要抗原, 该蛋白也能诱导 DF-1 细胞中 IFN- $\beta$  的上调表达, 通过活化 p38 MAPK 信号通路诱导 IFN- $\beta$  的表达。敲除 Bfr 的鸡白痢沙门菌完全丧失了诱导 DF-1 细胞表达 IFN- $\beta$  的能力, 表明 Bfr 在鸡白痢沙门菌诱导体液免疫应答和天然免疫应答过程中都发挥重要的作用<sup>[18]</sup>。利用转录组学研究对鸡白痢沙门菌感染的鸡脾脏细胞进行分析, 结果显示鸡白痢沙门菌在被清除前, 脾脏中的 B 细胞发生明显的活化和成熟, 而介导吞噬体和溶酶体融合基因(如 MYO6)受到明显抑制<sup>[31]</sup>。在鸡白痢沙门菌引发宿主天然免疫应答过程中, Nramp1、TLR4、

CD28、MD-2 和 MyD88 的多态性会影响不同品系鸡对鸡白痢沙门菌的敏感性, 通过对不同品系鸡中上述信号分子的 SNP 位点检测, 可以筛选出对鸡白痢沙门菌的敏感和抗性品系<sup>[32]</sup>。

沙门菌外膜蛋白(OMPs)在细菌侵袭宿主细胞及致病过程中发挥着重要作用, 同时因为其能诱导宿主产生细胞免疫和体液免疫, 尤其是孔蛋白具有良好的免疫原性和免疫保护性, 所以将外膜蛋白的致病机制和免疫学特性作为沙门菌疫苗研发的靶标。作为禽沙门菌的疫苗研发, 目前主要以 OmpC、OmpD、OmpX 为免疫抗原研发亚单位疫苗或疫苗佐剂, 具有较好的免疫保护性。当遇到氧化应激时, 两种主要的 OM 蛋白 OmpA 和 OmpC 中的孔隙可以快速关闭, OmpA 和 TrxA 的周质结构域中形成二硫键, 这些应对过氧化氢和氧化应激反应而快速改变外膜蛋白孔隙及渗透性的分子机制帮助细菌在宿主体内存活并抵御抗生素的杀伤作用, 同时在感染沙门菌期间细菌外膜通透性的降低有助于保护细菌免受宿主免疫系统产生的免疫分子的影响, 从而帮助沙门菌在宿主体内的有效定殖<sup>[33]</sup>。我们通常认为沙门菌通过 T3SS-1 进入宿主细胞, 而最近的研究显示沙门菌的外膜蛋白 RCK 可以模拟天然宿主细胞配体, 并通过与表皮生长因子受体相互作用诱导细菌被细胞吞噬<sup>[34]</sup>。虽然已有鼠伤寒沙门菌外膜亚蛋白质组的研究, 鉴定出与 OMP 相对应的 61 种蛋白质亚细胞定位<sup>[35]</sup>, 但是外膜蛋白与宿主细胞的相互作用机制仍需要进一步研究。

### 3 沙门菌的免疫应答规律及其机制研究

沙门菌感染鸡会引发鸡肠道 CXCLi1 和

CXCLi2 的表达<sup>[36]</sup>,促使嗜中性粒细胞和吞噬细胞进入肠道,引发炎症。鼠伤寒沙门菌或肠炎沙门菌在感染禽类后能引发强烈的炎症反应,嗜中性粒细胞、巨噬细胞、B 细胞和 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞都聚集至感染部位<sup>[37]</sup>,并伴随着促炎性细胞因子和 Th1 相关的免疫调节因子的表达<sup>[13,36,38-40]</sup>。雏鸡抵御肠炎沙门菌感染的指标反映在前炎性细胞因子(IL-6 和 CXCLi2)和 Th1 相关的细胞因子(IL-18)表达量的上升,及嗜中性粒细胞分泌的抑炎性细胞因子(TGF- $\beta$ 4)表达量的下降<sup>[41]</sup>。

相反,由宿主限制性鸡白痢沙门菌和鸡伤寒沙门菌引起的禽全身性沙门菌病以细菌侵入脾脏、肝脏和其他器官为主。在早期感染阶段,仅少数细菌侵入肠道,但是在感染晚期细菌重新进入肠道,这种现象与伤寒沙门菌感染人类极其相似。体内和体外感染实验都显示鸡白痢沙门菌和鸡伤寒沙门菌并不引起明显的炎症反应。与肠炎沙门菌感染相比,鸡白痢沙门菌感染后回肠趋化因子 CXC 的表达量明显偏低,表明鸡白痢沙门菌感染招募的嗜中性粒细胞相对较少<sup>[7]</sup>。鸡伤寒沙门菌感染鸡肾细胞(CKC)后,IL-6、CXCLi1 和 CXCLi2 的转录水平下调<sup>[13]</sup>,而具有运动能力的鸡伤寒沙门菌突变菌株对 CKC 的侵袭能力明显增加,并且 CXCLi2、IL-6 和 iNOS 的 mRNA 表达水平上调<sup>[42]</sup>。我们对特异性存在于鸡白痢沙门菌多拷贝小质粒 pSPI12 上的 *ipaJ* 基因进行消除后,与携带 *ipaJ* 基因的野生株和回复株相比较,突变菌株对禽源巨噬细胞(HD-11)和鸡肝癌上皮细胞(LMH)的侵袭能力明显下降,但是体内和体外实验结果显示突变株诱导 IFN- $\gamma$ 、IL-12 $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的表达水平上调<sup>[43]</sup>。能感染宿主但不引起强烈炎症反应的沙门菌血清型反映了它们对宿主的进化适应关系。

宿主谱广的沙门菌感染鸡后的 2-3 周内获得性免疫应答可以清除感染,主要是依赖于 Th1 介导的免疫应答,如肠道和深层组织中 IFN- $\gamma$  的高表达<sup>[36,44-45]</sup>。高表达的 IFN- $\gamma$  反过来能够活化巨噬细胞,使其产生高水平的 NO 杀死胞内的沙门菌<sup>[46]</sup>。除了 CD4<sup>+</sup> T 细胞产生 IFN- $\gamma$  外,CD8 $\alpha\alpha$ + $\gamma\delta$  T 细胞亚群也是鼠伤寒沙门菌或肠炎沙门菌感染鸡后 IFN- $\gamma$  的另一来源<sup>[38,47]</sup>。预示这种 T 细胞在宿主清除沙门菌感染中也发挥重要的作用。

沙门菌不仅能在巨噬细胞内持续存在,CD18<sup>+</sup> 吞噬细胞也是其定居场所之一<sup>[24-25]</sup>。鸡白痢沙门菌在感染恢复期母鸡体内的脾脏巨噬细胞中维持低数量的存在,但是在产蛋期细菌在脾脏中的数量迅速上升并从脾脏散播至生殖道,这可能和这一阶段鸡的免疫系统受到抑制相关<sup>[48]</sup>。关于免疫系统无法清除鸡白痢沙门菌的原因仍不清楚。有研究比较了鸡白痢沙门菌和肠炎沙门菌在感染鸡后其脾脏的炎性细胞因子表达水平的差异,发现鸡白痢沙门菌感染组 IL-18 和 IFN- $\gamma$  的表达水平明显低于肠炎沙门菌组,但是 IL-4 的表达水平显著升高,表明鸡白痢沙门菌的感染可能诱导更偏向于 Th2 免疫应答以逃脱 Th1 应答对胞内菌的杀伤。沙门菌敏感的鸡在感染细菌后 Th2 细胞因子的表达量会出现上调,这可能有利于宿主呈现沙门菌携带状态。

除了 Th1 免疫细胞,Tregs 和 Th17 细胞在控制沙门菌感染中也发挥重要的作用。在鼠伤寒沙门菌感染的小鼠模型中,早期感染阶段,Tregs 效力的增强会使 Th1 应答效应减弱,导致脾脏和肝脏中沙门菌的携带量增加<sup>[49]</sup>。Th17 细胞是组织炎症的重要调节因子,并且可能参与了沙门菌感染的肠道免疫应答。IL-17R 信号通路的缺失会增强鼠伤寒沙门菌感染引起的细菌全身性扩散,可能与招募嗜中性粒细胞进入肠黏膜的能力下降有

关<sup>[50]</sup>。肠炎沙门菌感染 IL-17 缺失的小鼠后, 也导致细菌在脾脏和肝脏中的数量增多, 同时伴有招募嗜中性粒细胞的能力下降<sup>[51]</sup>。在肠炎沙门菌感染鸡的结肠中, 早期检测到 IL-17 的表达和随后 IFN- $\gamma$  的高水平表达<sup>[52,40]</sup>。但是关于 Th17 细胞和 IL-17 在禽沙门菌病中的作用仍不十分清楚。

## 4 展望

禽沙门菌病是重要的家禽传染病之一, 不仅对养殖业造成经济损失, 还对人类安全构成威胁。在我国, 鸡白痢沙门菌仍然是困扰家禽养殖业的重要致病菌之一。沙门菌与宿主的免疫相互作用机制研究将有利于我们更好地认识病原与宿主之间的相互作用, 为新型疫苗和药物的研制提供新思路。目前, 现有研究已经初步揭示了鸡白痢沙门菌诱导 T 细胞免疫应答效应, 但是对激发该应答的分子生物学机制仍不完全清楚, 以及激发这种应答的效应蛋白仍未可知, 这方面的研究在副伤寒沙门菌中亦少见。不难看出, 揭示其中的分子基础及分子免疫学机制, 不仅有重大学术价值, 而且有重要的应用价值。

## 参考文献

- [1] Auweter SD, Bhavsar AP, de Hoog CL, Li YL, Chan YA, van der Heijden J, Lowden MJ, Coombe BK, Rogers LD, Stoykov N, Foster LJ, Finlay BB. Quantitative mass spectrometry catalogues *Salmonella* pathogenicity island-2 effectors and identifies their cognate host binding partners. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(27): 24023–24035.
- [2] Brown NF, Finlay BB. Potential origins and horizontal transfer of type III secretion systems and effectors. *Mobile Genetic Elements*, 2011, 1(2): 118–121.
- [3] Jiao XA, Li QC. The research progress of pathogenic bacteria omics. *China Poultry*, 2011, 33(19): 37–40, 43. (in Chinese)  
焦新安, 李求春. 病原细菌组学的研究进展. 中国家禽, 2011, 33(19): 37–40, 43.
- [4] Barrow PA, Neto OCF. Pullorum disease and fowl typhoid—new thoughts on old diseases: a review. *Avian Pathology*, 2011, 40(1): 1–13.
- [5] FAO/WHO. *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat: microbiological risk assessment series 19. World Health Organization, 2009.
- [6] Barrow PA. *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. *Avian Pathology*, 2007, 36(1): 1–13.
- [7] Chappell L, Kaiser P, Barrow P, Jones MA, Johnston C, Wigley P. The immunobiology of avian systemic salmonellosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2009, 128(1/3): 53–59.
- [8] Guo AZ, Lasaro MA, Sirard JC, Kraehenbühl JP, Schifferli DM. Adhesin-dependent binding and uptake of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by dendritic cells. *Microbiology*, 2007, 153: 1059–1069.
- [9] Clayton DJ, Bowen AJ, Hulme SD, Buckley AM, Deacon VL, Thomson NR, Barrow PA, Morgan E, Jones MA, Watson M, Stevens MP. Analysis of the role of 13 major fimbrial subunits in colonisation of the chicken intestines by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis reveals a role for a novel locus. *BMC Microbiology*, 2008, 8: 228.
- [10] Xiong D, Song L, Hu MZ, Pan ZM, Jiao XA. Progress on application of immune evasion mechanisms by *Salmonella*. *Progress in Veterinary Medicine*, 2015, 36(4): 96–99, 100. (in Chinese)  
熊丹, 宋丽, 胡茂志, 潘志明, 焦新安. 沙门菌免疫逃逸机制及其应用研究进展. 动物医学进展, 2015, 36(4): 96–99, 100.
- [11] Kaiser P, Rothwell L, Galyov EE, Barrow PA, Burnside J, Wigley P. Differential cytokine expression in avian cells in response to invasion by *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Gallinarum. *Microbiology*, 2000, 146 Pt 12: 3217–3226.
- [12] Sijben JWC, Klasing KC, Schrama JW, Parmentier HK, van der poel JJ, Savelkoul HFJ, Kaiser P. Early *in vivo* cytokine genes expression in chickens after challenge with *Salmonella* Typhimurium lipopolysaccharide and modulation by dietary *n*-3 polyunsaturated fatty acids. *Developmental & Comparative Immunology*, 2003, 27(6/7): 611–619.
- [13] Setta A, Barrow PA, Kaiser P, Jones MA. Immune dynamics following infection of avian macrophages and epithelial cells with typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars; bacterial invasion and persistence, nitric oxide and oxygen production, differential host gene expression, NF- $\kappa$ B signalling and cell cytotoxicity. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2012, 146(3/4): 212–224.

- [14] Monack DM, Bouley DM, Falkow S. *Salmonella* Typhimurium persists within macrophages in the mesenteric lymph nodes of chronically infected *Nramp1*<sup>+/+</sup> mice and can be reactivated by IFN $\gamma$  neutralization. *Journal of Experimental Medicine*, 2004, 199(2): 231–241.
- [15] Vazquez-Torres A, Xu YS, Jones-Carson J, Holden DW, Lucia SM, Dinauer MC, Mastroeni P, Fang FC. *Salmonella* pathogenicity island 2-dependent evasion of the phagocyte NADPH oxidase. *Science*, 2000, 287(5458): 1655–1658.
- [16] Batista DFA, Freitas Neto OC, Barrow PA, de Oliveira MT, Almeida AM, Ferraudo AS, Berchieri A Jr. Identification and characterization of regions of difference between the *Salmonella* Gallinarum biovar Gallinarum and the *Salmonella* Gallinarum biovar Pullorum genomes. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015, 30: 74–81.
- [17] Chakravorty D, Hansen-Wester I, Hensel M. *Salmonella* pathogenicity island 2 mediates protection of intracellular *Salmonella* from reactive nitrogen intermediates. *Journal of Experimental Medicine*, 2002, 195(9): 1155–1166.
- [18] Hulme SD, Barrow PA, Foster N. Inhibited production of iNOS by murine J774 macrophages occurs via a *phoP*-regulated differential expression of NF $\kappa$ B and AP-1. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012, 2012: 483170.
- [19] Xu ZC, Qin Y, Wang YQ, Li XQ, Cao H, Zheng SJ. A critical role of bacterioferritin in *Salmonella* Pullorum-induced IFN- $\beta$  expression in DF-1 cells. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 20.
- [20] Jones MA, Wigley P, Page KL, Hulme SD, Barrow PA. *Salmonella enterica* serovar Gallinarum requires the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system but not the *Salmonella* pathogenicity island 1 type III secretion system for virulence in chickens. *Infection and Immunity*, 2001, 69(9): 5471–5476.
- [21] Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, Wigley P. The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken. *Avian Pathology*, 2007, 36(3): 199–203.
- [22] Shin S, Brodsky IE. The inflammasome: learning from bacterial evasion strategies. *Seminars in Immunology*, 2015, 27(2): 102–110.
- [23] Sahler JM, Eade CR, Altier C, March JC. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium increases functional PD-L1 synergistically with gamma interferon in intestinal epithelial cells via *Salmonella* pathogenicity island 2. *Infection and Immunity*, 2018, 86(5): e00674–17.
- [24] Blondel CJ, Yang HJ, Castro B, Chiang S, Toro CS, Zaldívar M, Contreras I, Andrews-Polymenis HL, Santiviago CA. Contribution of the type VI secretion system encoded in SPI-19 to chicken colonization by *Salmonella enterica* serotypes Gallinarum and Enteritidis. *PLoS ONE*, 2010, 5(7): e11724.
- [25] Blondel CJ, Jiménez JC, Leiva LE, Álvarez SA, Pinto BI, Contreras F, Pezoa D, Santiviago CA, Contreras I. The type VI secretion system encoded in *Salmonella* pathogenicity island 19 is required for *Salmonella enterica* serotype Gallinarum survival within infected macrophages. *Infection and Immunity*, 2013, 81(4): 1207–1220.
- [26] Matthews TD, Schmieder R, Silva GGZ, Busch J, Cassman N, Dutilh BE, Green D, Matlock B, Heffernan B, Olsen GJ, Hanna LF, Schifferli DM, Maloy S, Dinsdale EA, Edwards RA. Genomic comparison of the closely-related *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Dublin and Gallinarum. *PLoS ONE*, 2015, 10(6): e0126883.
- [27] Li QC, Xu YH, Jiao XA. Identification of *Salmonella* Pullorum genomic sequences using suppression subtractive hybridization. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 19(9): 898–903.
- [28] Yin JL, Chen Y, Xie XL, Xia J, Li QC, Geng SZ, Jiao XA. Influence of *Salmonella enterica* serovar Pullorum pathogenicity island 2 on type III secretion system effector gene expression in chicken macrophage hd11 cells. *Avian Pathology*, 2017, 46(2): 209–214.
- [29] Tao Z, Zhu C, Song W, Xu W, Zhang S, Liu H, Li H. Inductive expression of the *NOD1* signalling pathway in chickens infected with *Salmonella* Pullorum. *British Poultry Science*, 2017, 58(3): 242–250.
- [30] Qiu LL, Ma T, Chang GB, Liu XP, Guo XM, Xu L, Zhang Y, Zhao WM, Xu Q, Chen GH. Expression patterns of *NLRC5* and key genes in the *stat1* pathway following infection with *Salmonella* Pullorum. *Gene*, 2017, 597: 23–29.
- [31] Ma T, Xu L, Wang H, Guo X, Li Z, Wan F, Chen J, Liu L, Liu X, Chang G, Chen G. Identification of the crucial genes in the elimination and survival process of *Salmonella enterica* ser. Pullorum in the chicken spleen. *Animal Genetics*, 2017, 48(3): 303–314.
- [32] Liu XQ, Wang F, Jin J, Zhou YG, Ran JS, Feng ZQ, Wang Y, Liu YP. *MyD88* polymorphisms and association with susceptibility to *Salmonella* Pullorum. *Biomed Research International*, 2015, 2015: 692973.
- [33] van der Heijden J, Reynolds LA, Deng WY, Mills A, Scholz R, Imami K, Foster LJ, Duong F, Finlay BB. *Salmonella* rapidly regulates membrane permeability to survive oxidative

- stress. *mBio*, 2016, 7(4): e01238–16.
- [34] Mambu J, Virlogeux-Payant I, Holbert S, Grepinet O, Velge P, Wiedemann A. An updated view on the rck invasin of *Salmonella*: still much to discover. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 500.
- [35] Ferrer-Navarro M, Ballesté-Delpierre C, Vila J, Fàbrega A. Characterization of the outer membrane subproteome of the virulent strain *Salmonella* Typhimurium SL1344. *Journal of Proteomics*, 2016, 146: 141–147.
- [36] Setta AM, Barrow PA, Kaiser P, Jones MA. Early immune dynamics following infection with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Infantis, Pullorum and Gallinarum: cytokine and chemokine gene expression profile and cellular changes of chicken cecal tonsils. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2012, 35(5): 397–410.
- [37] Berndt A, Pieper J, Methner U. Circulating  $\gamma\delta$  T cells in response to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis exposure in chickens. *Infection and Immunity*, 2006, 74(7): 3967–3978.
- [38] Fasina YO, Holt PS, Moran ET, Moore RW, Conner DE, McKee SR. Intestinal cytokine response of commercial source broiler chicks to *Salmonella* Typhimurium infection. *Poultry Science*, 2008, 87(7): 1335–1346.
- [39] Cheeseman JH, Levy NA, Kaiser P, Lillehoj HS, Lamont SJ. *Salmonella* Enteritidis-induced alteration of inflammatory CXCL chemokine messenger-RNA expression and histologic changes in the ceca of infected chicks. *Avian Diseases*, 2008, 52(2): 229–234.
- [40] Matulova M, Varmuzova K, Sisak F, Havlickova H, Babak V, Stejskal K, Zdrahal Z, Rychlik I. Chicken innate immune response to oral infection with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Veterinary Research*, 2013, 44: 37.
- [41] Swaggerty CL, Kaiser P, Rothwell L, Pevzner IY, Kogut MH. Heterophil cytokine mRNA profiles from genetically distinct lines of chickens with differential heterophil-mediated innate immune responses. *Avian Pathology*, 2006, 35(2): 102–108.
- [42] de Freitas Neto OC, Setta A, Imre A, Bukovinski A, Elazomi A, Kaiser P, Berchieri Junior A, Barrow P, Jones M. A flagellated motile *Salmonella* Gallinarum mutant (SG Fla<sup>+</sup>) elicits a pro-inflammatory response from avian epithelial cells and macrophages and is less virulent to chickens. *Veterinary Microbiology*, 2013, 165(3/4): 425–433.
- [43] Yin C, Xu LJ, Li Y, Liu ZJ, Gu D, Li QC, Jiao XA. Construction of pSPI12-cured *Salmonella enterica* serovar Pullorum and identification of IpaJ as an immune response modulator. *Avian Pathology*, 2018, 47(4): 410–417.
- [44] Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U. Chicken cecum immune response to *Salmonella enterica* serovars of different levels of invasiveness. *Infection and Immunity*, 2007, 75(12): 5993–6007.
- [45] Wigley P, Hulme S, Powers C, Beal R, Smith A, Barrow P. Oral infection with the *Salmonella enterica* serovar Gallinarum 9R attenuated live vaccine as a model to characterise immunity to fowl typhoid in the chicken. *BMC Veterinary Research*, 2005, 1: 2.
- [46] Babu US, Gaines DW, Lillehoj H, Raybourne RB. Differential reactive oxygen and nitrogen production and clearance of *Salmonella* serovars by chicken and mouse macrophages. *Developmental & Comparative Immunology*, 2006, 30(10): 942–953.
- [47] Pieper J, Methner U, Berndt A. Characterization of avian  $\gamma\delta$  T-cell subsets after *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection of chicks. *Infection and Immunity*, 2011, 79(2): 822–829.
- [48] Wigley P, Hulme SD, Powers C, Beal RK, Berchieri A Jr, Smith A, Barrow P. Infection of the reproductive tract and eggs with *Salmonella enterica* serovar Pullorum in the chicken is associated with suppression of cellular immunity at sexual maturity. *Infection and Immunity*, 2005, 73(5): 2986–2990.
- [49] Johanns TM, Ertelt JM, Rowe JH, Way SS. Regulatory T cell suppressive potency dictates the balance between bacterial proliferation and clearance during persistent *Salmonella* infection. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(8): e1001043.
- [50] Raffatelli M, Santos RL, Chessa D, Wilson RP, Winter SE, Rossetti CA, Lawhon SD, Chu H, Lau T, Bevins CL, Adams LG, Bäumlner AJ. The capsule encoding the *viaB* locus reduces interleukin-17 expression and mucosal innate responses in the bovine intestinal mucosa during infection with *Salmonella enterica* serotype Typhi. *Infection and Immunity*, 2007, 75(9): 4342–4350.
- [51] Schulz SM, Köhler G, Holscher C, Iwakura Y, Alber G. IL-17A is produced by Th17,  $\gamma\delta$  T cells and other CD4<sup>+</sup> lymphocytes during infection with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and has a mild effect in bacterial clearance. *International Immunology*, 2008, 20(9): 1129–1138.
- [52] Crhanova M, Hradecka H, Faldynova M, Matulova M, Havlickova H, Sisak F, Rychlik I. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection. *Infection and Immunity*, 2011, 79(7): 2755–2763.



# Characteristics of immune response induced by avian *Salmonella*

Chao Yin<sup>1,2,3</sup>, Lijuan Xu<sup>1,2,3</sup>, Qiuchun Li<sup>1,2,3\*</sup>, Zhiming Pan<sup>1,2,3</sup>, Shizhong Geng<sup>1,2,3</sup>, Xin'an Jiao<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis/Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China

<sup>2</sup> Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agrifood Safety and Quality, Ministry of Agriculture, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China

<sup>3</sup> Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety of the Ministry of Education, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China

**Abstract:** Salmonellosis is one of the most widespread food-borne diseases throughout the world, not only causes economic losses to the breeding industry, but also poses a threat to human health. Avian *Salmonella* enters the small intestine where infection can be established, inducing intestinal epithelial cells express a number of TLRs and inflammation. These lead to the expression of chemokines that attract immune effector cells to the sites of infection. Following translocation across the intestinal epithelial barrier, bacteria are phagocytosed by cells such as macrophages and DCs, macrophages are its preferred cell type. The adaptive immune response is stimulated by the innate immune system through antigen presentation to lymphocytes. Adaptive immunity can clear infection within 2–3 weeks following infection by a Th1 dominated response in the gut and deeper tissues. In contrast, avian systemic salmonellosis caused by the host-adapted serovar *S. Pullorum* is characterized by invasion from the intestine with multiplication in the spleen, liver and other organs. The stage of infection resulted in little inflammation *in vivo* or *in vitro*. *S. Pullorum* tends to induce an immune response that more closely resembled the Th2 response in mammals and would allow *S. Pullorum* to establish an intracellular carriage evading Th1-mediated clearance. This review compared the pathogenesis and immune response characteristics of *Salmonella*, especially the mechanisms by which *S. Pullorum* evades host immunity and produces the persistent carrier state. Finally, it will be helpful to provide new targets and new opinions for the prevention and control of avian salmonellosis.

**Keywords:** *Salmonella*, molecular immunology, poultry, immune response

(本文责编: 李磊)

---

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31730094, 31320103907), by the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0500705), by the Jiangsu Province Agricultural Science and Technology Independent Innovation Funds [CX(16)1028] and by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

\*Corresponding author. Tel: +86-514-87997217; Fax: +86-514-87991747; E-mail: Qiuchun Li, qcli@yzu.edu.cn, Xin'an Jiao, jjiao@yzu.edu.cn

Received: 5 June 2018; Revised: 23 July 2018; Published online: 28 November 2018