

胸膜肺炎放线杆菌 RTX 毒素与宿主的相互作用

范盛先, 刘辉, 陈杨, 陈焕春, 何启盖*

(华中农业大学动物医学院, 预防兽医学湖北省重点实验室, 武汉 430070)

摘要 胸膜肺炎放线杆菌引起猪传染性胸膜肺炎, 给养猪业造成严重的经济损失。RTX 毒素是胸膜肺炎放线杆菌主要的毒力因子, 在该病原的感染与免疫中发挥“双刃剑”的作用。本文综述了近十多年来国内外在胸膜肺炎放线杆菌 RTX 毒素的研究进展, 提出了毒素与宿主互作研究的必要性和技术可行性, 认为毒素与宿主相互作用研究将诠释此病原的分子致病机理。

关键词: 胸膜肺炎放线杆菌, RTX 毒素, 蛋白质相互作用, 分子致病机理

中图分类号: R37 **文献标识码**: A **文章编号**: 0001-6209(2009)02-0141-06

1 胸膜肺炎放线杆菌及其 RTX 毒素

猪传染性胸膜肺炎是目前全球养猪业中最常见和最重要的猪呼吸道传染病之一, 猪感染后主要表现为严重的纤维素性肺炎和胸膜炎, 造成急性死亡或耐过猪生长缓慢, 饲料报酬降低, 给养猪业造成严重的经济损失。病原菌为胸膜肺炎放线杆菌, 有 15 个血清型, 其毒力由多因素决定, 包括荚膜多糖、脂多糖、转铁结合蛋白、脲酶和 RTX 毒素等。用脉冲电泳技术对 Asc I、Apa I 等 2 个内切酶消化的基因组进行分析, 发现胸膜肺炎放线杆菌血清 1 型菌株(4074 株)的基因组大小为 2.4 Mb, 其它血清型在 2.3 ~ 2.4 Mb 之间^[1]。Footes 等(2008)报道的血清 5b 型(L20 菌株)的基因组大小为 2274482 bp, 含有大约 2012 阅读框^[2]。我国血清 3 型 JL03 菌株的基因组大小为 2242062 bp, 包含 2097 个蛋白质编码序列, 6 个 rRNA 操纵子和 63 个 tRNA 基因^[3]。

RTX(repeat in the structural toxin, RTX)是由多种革兰氏阴性细菌产生的一种外毒素。该毒素含有富含甘氨酸和天冬氨酸的调控元, 在 C-端有 9 ~ 40

次的重复, 此调控元可以结合钙离子, 是毒素生物学活性的关键。RTX 具有可使脂质双层膜形成通道的特性(pore-forming activity), 细胞渗透压变化引起细胞肿胀, 导致宿主细胞破裂。推测, N-端第 130 ~ 450 位氨基酸是与毒素具有通道形成特性密切相关的区域。在动物病原微生物中, 能产生 RTX 毒素的细菌有胸膜肺炎放线杆菌, 大肠杆菌和溶血性巴氏杆菌等。不同血清型的胸膜肺炎放线杆菌分别表达 4 种不同的溶血素(hemolysins)或细胞毒素(cytotoxins), 即 Apx I、Apx II、Apx III 和 Apx IV。毒素的产生、激活和分泌受 apxCABD 操纵元的控制。在通道形成能力中, Apx I 所致的通道最大, Apx III 所致的通道最小^[4]。Apx I 的溶血性最强, Apx III 的细胞毒性最强。Apx II 具有弱的溶血性和弱的细胞毒性。在 Apx 操纵子中, ApxA 是毒素的结构蛋白, 开始合成时没有毒素活性, 在 ApxC 作用下发生乙酰化, 形成 ApxC-ApxA 复合体, 毒素活性随之产生。ApxB 和 ApxD 负责毒素 A 的转运与分泌。不同血清型菌株毒力高低有差异, 与分泌的毒素种类密切相关, 能产生 Apx I 和 Apx II 的菌株其毒力最强, 毒素基因缺失

基金项目: 国家十一五科技支撑计划(2006BAD06A12); 国家自然科学基金(30530590)

* 通信作者。Tel: +86-27-87286974; Fax: +86-27-87282608; E-mail: heqigai@yahoo.com

作者简介: 范盛元(1966-), 女, 四川米易县人, 高级工程师, 从事基础兽医学研究。

收稿日期: 2008-07-27; 修回日期: 2008-09-30

的突变株对猪和小鼠失去致病力^[5]。因此, RTX 毒素失活的突变株可用于疫苗研究, 研制一种能提供针对 15 个血清型的交叉保护的活疫苗, 并建立配套的区分活苗免疫猪和感染猪的 Apx II 鉴别诊断方法^[6], 而 Apx IV-ELISA 主要用于区分灭活苗免疫猪和活菌感染猪。

RTX 毒素是一种“双刃剑”, 在动物感染后的疾病发展中起主要作用, 但是, 胸膜肺炎放线杆菌的 RTX 毒素(Apx)具有很强的免疫原性, 耐过动物体内能诱导产生很好的交叉保护性免疫力, 能抵抗相同和不同血清型菌株的感染, 因而可用于亚单位疫苗的研制^[7]。通过细菌和酵母表达系统仅表达 Apx 毒素的结构蛋白 ApxA, 由于无 ApxC 的激活, 因此, ApxIA, ApxIIA 等没有毒素作用, 仅保留其免疫原性。如小鼠口服 ApxIIA 转基因烟草, 获得抵抗针对血清 2 型菌株感染的能力^[8], 其保护机理是动物免疫后, 肺脏和肠道中发现 IgA 分泌细胞, 产生局部特异性 IgA(如肺脏中)和血清 IgG, 而 IgA 是粘膜组织中含量最多的免疫球蛋白, 成为抗感染的第一道防线, 阻止病原的吸附和促进清除已感染的胸膜肺炎放线杆菌, 此外, 肺脏中 IgA 能够调节炎症反应^[9]。免疫接种可降低感染后临床症状的严重性和动物死亡率, 但不能阻止感染。

1.2 胸膜肺炎放线杆菌与宿主靶细胞

1.2.1 胸膜肺炎放线杆菌感染后宿主细胞的反应:

胸膜肺炎放线杆菌感染动物后, 炎症的发生和发展是最常见和最主要的病理变化, 已有的研究报道主要集中在对炎症机制研究。Baarsch 等(1995)采用了 Northern blot 和原位杂交技术检测了经气管内接种胸膜肺炎放线杆菌血清 1 型菌株, 在 2、4、8 和 24 h 后猪肺泡液、肺泡细胞(主要是巨噬细胞)和肺组织中细胞因子基因的转录, 发现 TNF(在感染前后没有变化, 但 IL-1 和 IL-8 与胸膜肺炎的发展和严重性相关^[10]), Choi 等(1999)用原位杂交技术在经福尔马林固定石蜡包埋的感染猪肺组织中检测到 IL-1, IL-6 和 TNF(的共同表达^[11]), 这些结果证明了细胞因子在胸膜肺炎中发挥着重要的作用。Cho 等(2005)^[12]用 RT-PCR 技术和原位杂交技术, 用不吃母乳的 7 日龄仔猪为模型, 在感染后的不同时间段中, 在感染猪的肺脏中, 检测到 IL-10, IL-12p35 和 IL-12p40, 这些分子的出现总是与炎症有关, 尤其是肺泡中的巨噬细胞和嗜中性细胞的存在相关, 推测, 这些白介素分子与感染过程中疾病发展有关。Cho 等(2003)

体外试验发现, 肺泡巨噬细胞被胸膜肺炎放线杆菌感染后, 分泌产生一氧化氮合成酶和环氧酶-2(Cyclooxygenase-2), 进而产生一氧化氮和前列腺素 E2(PGE2), 并提出抑制这两种酶的活性将为本病的治疗提供新的途径^[13]。

利用双向电泳技术和质谱方法, Pauka 等(2006)^[14]分析感染胸膜肺炎放线杆菌后猪支气管肺泡液蛋白质差异表达, 发现了抗菌肽(Prophenin-2 和 PR-38)以及钙结合蛋白(Calgranulin C)的表达上调, 认为 PR-38 的浓度变化可以作为猪呼吸道健康的生物标记; Morser 等(2008)^[15]用猪的 cDNA 芯片和定量 RT-PCR 技术研究了猪感染胸膜肺炎放线杆菌后, 比较病变分值高和病变分值低的猪外周白细胞中的基因表达, 发现 92 个基因表达上调, 4 个基因表达下调, 大多数差异表达基因涉及天然免疫系统。Hedegaard 等(2008)^[16]分别采用含 5375 个和 26879 个 PCR 产物制备的 cDNA 芯片研究了猪感染本病原后肺脏和肝脏中宿主早期应答的分子特征, 结果发现, 感染猪和非感染猪的肺脏、肝脏和支气管淋巴结中等组织中分别有 357、713 和 130 个基因差异表达极显著, 在出现炎症的肺脏中, 编码免疫激活蛋白和天然免疫系统炎症介导因子的基因表达上调, 肝脏中编码不同急性反应因子的基因出现差异表达。

在宿主细胞中, 嗜中性细胞对 RTX 毒素高度敏感。嗜中性细胞是天然免疫系统的最基本成分, 当其渗出血管外到达组织中, 通过吞噬和裂解作用, 清除细菌、寄生虫、真菌和病毒, 发挥第一道防线的功能。此外, 嗜中性细胞可被入侵的微生物所激活, 产生对细胞具有毒性的物质和免疫调节因子, 如 IL-1, IL-10, TNF- α 。如果这些因子过量产生, 将引起严重的炎症反应, 如肺出血性病变^[17-18]。与毒素相互作用后, 嗜中性细胞分泌炎症介导因子, 如 IL-1 β , TNF- α , 嗜中性细胞发生脱粒(degranulation)等, 最终导致免疫应答的紊乱。对此方面的研究可阐明感染本病原后, 宿主细胞的病理变化以及致病机制。

1.2.2 感染宿主后胸膜肺炎放线杆菌特定基因的诱导表达:

对仅在动物体内表达的细菌基因的研究, 将有助于从病原菌的角度阐明分子致病机理。虽然所有血清型的胸膜肺炎放线杆菌都可以检测到 ApxIV 基因, 然而体外培养却不能产生该毒素, 只能在感染的动物体内才能检测到该毒素, 并刺激动物产生抗体, 因此, 以 ApxIV 为抗原建立的免疫学方法

可以区分灭活疫苗和自然感染动物¹⁹⁻²⁰。ApxIV 体内表达差异提示动物体内某些特定因子的参与是该毒素表达和分泌所必须,但目前尚未发现这些独特的调控因子。

如同其它细菌一样,胸膜肺炎放线杆菌在体内感染过程的第一步是吸附于宿主细胞上。胸膜肺炎放线杆菌能吸附到猪肺上皮细胞中(Boekema 等 2003)²¹,主要原因是该病原菌 LPS 中的 O 抗原能结合细胞膜中的磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine)²²。该菌具有 IV 型纤毛,其操纵子由 apfABCD 组成,编码产生 17 kDa 的蛋白²³。把启动子与 LuxAB 报告基因融合的试验证实,只有在特定的培养基和接触猪肺上皮细胞后,启动子的活性发生上调,apfABCD 操纵子才转录²⁴,说明该基因的启动子的调控是十分严格。

1999 年,Fuller 等首次建立并使用体内诱导表达技术(IVET)技术研究动物感染本病原后,病原基因表达的差异,与体外培养相比,发现了 4 个克隆,它们分别与 ilvI、ilvDA 操纵子、SecE-NusG 操纵子和 mrp 基因同源²⁵;利用 SCOTS 技术,Balter 等于 2004 年检测了感染猪发生坏死的肺脏中胸膜肺炎放线杆菌的基因表达,鉴定了 46 个基因,其中 20 个基因与曾经报道的胸膜肺炎放线杆菌和其它细菌的体内表达基因、细菌毒力基因一致²⁶;通过模仿感染动物肺内的环境即缺少支链氨基酸的条件,Wanger 等(2006)²⁷应用 IVET 研究了本病原的基因表达,在 32 个体内诱导表达的基因中,8 个基因在缺乏异亮氨酸和亮氨酸中获得诱导表达,参与支链氨基酸生物合成。Balter 等(2007)²⁸应用 SCOTS 技术,从慢性感染猪模型(感染后 21 d)的肺脏中所回收的胸膜肺炎放线杆菌中,发现了一种毒力相关蛋白,大小为 104 kDa,存在于 15 个血清型的 APP 中,并受广泛存在的厌氧调节因子 HlyX 的调节。Deslandes 等(2007)²⁹比较了在含丰富铁源和不含铁的培养基上增殖的胸膜肺炎放线杆菌的转录特征,发现了 210 个差异表达的基因,其中 92 个基因表达上调,很多基因已经确认可能与铁的获取有关,如编码 2 个 TonB 能量转换蛋白以及血红蛋白受体 HgbA,同时也发现了许多新的铁摄取系统和一些表达下调的基因。

2 国内研究现状

鉴于该病对养猪业造成的严重危害,近 10 年

来,我们对该病开展了基础和应用研究。应用间接血凝试验对我国大多数省市进行了广泛的流行病学调查,明确了血清型 1、3、7 为我国优势血清型,研制了标准抗原和标准的分型血清,并建立了分型的血清学方法;从患病动物中分离了病原菌³⁰,建立了通用的 PCR 检测方法和用于区分不同血清型的基因分型 PCR 方法,考虑到细菌毒力相关因子在该病原致病性上的重要意义,我们克隆和表达了毒素 Apx I^[31]、Apx II^[32]、Apx III^[33]和 Apx IV^[20],并以表达的 RTX 毒素和菌体为主要的抗原研制了新型疫苗。在毒素研究的基础上,构建了 Apx II 失活的突变株,对相同血清型和不同血清型的保护力分别为 100% 和 70%^[34]。另外,制备了 Apx I, Apx II, Apx III 的单抗,分析了抗原表位³⁵。毒力相关因子,尤其是毒素基因的获得和表达产物的纯化,为研究致病机理的研究提供了很好的素材。

值得一提的是,华中农业大学 2008 年对我国流行的胸膜肺炎放线杆菌菌株(JL03 株,血清 3 型)进行了基因组测序与解析,明晰了基因组大小和开放阅读框³¹,这些结果与 Foote 等(2008)²¹发表的血清 5 型 L20 菌株基因组序列一起,为进一步开展本病原菌与宿主相互作用提供较为完整的生物信息学知识。

令人高兴的是,近年来,我国对本病原菌的研究十分活跃。兰州兽医研究所逯忠新、山东农业大学刁有祥、江苏农科院和四川农业大学等高校和研究所也开展了病原分离鉴定、流行病学和防治措施研究等相关的研究。我国幅员辽阔,不同地区的疾病发生有不同的特点,不同单位开展的研究结果,为此病防治的基础研究和应用研究提供了丰富的线索。

3 毒素与宿主相互作用研究的必要性

疾病是病原微生物与机体之间互相作用的结果,细胞一旦被微生物感染后,细胞内各种成分的表达将发生明显的改变。由于病原不同,很多宿主基因的表达也会发生改变,如编码细胞因子、细胞凋亡相关因子、生长因子、与应激和信号传导相关的反应等。近年来开展的胸膜肺炎放线杆菌与宿主相互作用后特定毒力基因的表达研究,主要采用信号标签技术(Signature-tagged mutagenesis, STM)和体内表达技术(In vivo expression technology, IVET)^[36-37];RT-PCR 和 Southern blot 技术用于研究宿主靶细胞中基因的表达,主要是细胞因子等,但不能进行细胞基因表

达的全方位评估。实时定量 RT-PCR 已经应用于无铁源培养基中生长的胸膜肺炎放线杆菌看家基因稳定性表达研究^[38]。近年来,功能基因组学和蛋白质组学研究技术的日益完善并得到广泛应用。同时,令人鼓舞的是,猪基因芯片的研制成功并商业化^[39],为开展在病原微生物与猪靶细胞相互作用研究等研究建立了极好的技术平台。

高毒力胸膜肺炎放线杆菌感染给养猪业带来的严重损失,动物单独注射毒素,可引起与接种完整病原菌相同的症状和临床经过。因此,研究胸膜肺炎放线杆菌及其产生的毒素,在动物体内外特异性诱导靶细胞基因差异表达,发现宿主细胞中与致病相关基因,并探索基因产物参与的细胞内信号传递途径,并与细菌基因表达相联系。研究结果必将进一步阐明胸膜肺炎放线杆菌及其毒素分子致病机理,也为其它革兰氏阴性细菌 RTX 毒素的研究提供借鉴作用。

参考文献

- [1] Chevallier B, Dugourd D, Tarasiuk K, et al. Chromosome sizes and phylogenetic relationships between serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *FEMS Microbiology Letters*, 1998, 160 : 209 - 216.
- [2] Foote SJ, Bosse' JT, Bouevitch AB, et al. The complete genome sequence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* L20 (Serotype 5b). *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(4): 1495 - 1496.
- [3] Xu Z, Zhou Y, Li L, et al. Genome biology of *Actinobacillus pleuropneumoniae* JL03, an isolate of serotype 3 prevalent in China. *Public Library of Science ONE*, 2008, 3(1) : e1450.
- [4] Maier E, Reihhard N, Benz R, et al. Channel-forming activity and channel size of the RTX toxins Apx I, Apx II and Apx III of *Actinobacillus Pleuropneumoniae*. *Infection and Immunity*, 1996, 63 : 4415 - 4423.
- [5] Prideaux CT, Pierce L, Krywult J, et al. Protection of mice against challenge with homologous and heterologous serovars of *Actinobacillus pleuropneumoniae* After Live vaccination. *Current Microbiology*, 1998, 37 : 324 - 332.
- [6] Maasa A, Meens J, Baltens N, et al. Development of a DIVA subunit vaccine against *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection. *Vaccine*, 2006, 24 : 7226 - 7237.
- [7] 刘建杰, 陈焕春, 李冲, 等. 新型基因工程亚单位疫苗对传染性胸膜肺炎的保护效力研究. *中国农业科学 (Scientia Agricultura Sinica)*, 2005, 38(3) : 596 - 600.
- [8] Lee KY, Kim DH, Kang TJ, et al. Induction of protective immuneresponses against the challenge of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by the oral administration of transgenic tobacco plant expressing ApxII Atoxin from the bacteria. *FEMS Immunology Medical Microbiology*, 2006, 48 : 381 - 389.
- [9] Shin SJ, Shin SW, Kang ML, et al. Enhancement of protective immune responses by oral vaccination with *Saccharomyces cerevisiae* expressing recombinant *Actinobacillus pleuropneumoniae* ApxIA or ApxIIA in mice. *Journal of Veterinary Science*, 2007, 88(4): 383 - 392.
- [10] Baarsch MJ, Scamurra RW, Burger K, et al. Inflammatory cytokine expression in swine experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Infection and Immunity*, 1995, 63 : 3587 - 3594.
- [11] Choi C, Kwon D, Min K, et al. In-situ hybridization for the detection of inflammatory cytokines (IL-1, TNF- α and IL-6) in pigs naturally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Journal of Comparative Pathology*, 1999, 121(4) : 349 - 356.
- [12] Cho WS, Kim JJ, Ha Y, et al. Expression of mRNA Encoding Interleukin (IL)-10, IL-12p53 and IL-12p40 in lungs from pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Research Communication*, 2005, 29 : 111 - 122.
- [13] Chos WS, Chae C. In vitro effects of *Actinobacillus pleuropneumoniae* on inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in porcine alveolar macrophages. *American Journal of Veterinary Research*, 2003, 64(12) : 1514 - 1518.
- [14] Hennig-Pauka I, Jacobsen I, Blecha F, et al. Differential proteomic analysis reveal increased cathelicidin expression in porcine bronchoalveolar lavage fluid after an *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection. *The Veterinary Record*, 2006, 37 : 75 - 87.
- [15] Moser RJ, Reverter A, Lehnert SA. Gene expression profiling of porcine peripheral blood leukocytes after infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008, 121 : 260 - 274.
- [16] Hedegaard J, Skovgaard K, Mortensen S, et al. Molecular characterisation of the early response in pigs to experimental infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae* using cDNA microarrays. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2007, 49 : 11.
- [17] Wagner JG, and Roth RA. Neutrophil migration during endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*, 1999, 66 : 10 - 24.
- [18] Parsey MV, Kaneko D, Shenkar R, et al. Neutrophil apoptosis in the lung after hemorrhage or endotoxemia: apoptosis and migration independent of interleukin-1

- beta. *Chest*, 1999, 116: 67S – 68S.
- [19] Dreyfus A, Schaller A, Nivollet S, et al. Use of recombinant ApxIV in serodiagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections, development and prevalidation of the ApxIV ELISA. *Veterinary Microbiology*, 2004, 19: 99 (3–4): 227 – 238.
- [20] 黄红亮, 周锐, 陈美玲, 等. 胸膜肺炎放线杆菌毒素 apxIVA 基因的克隆与表达及间接 ELISA 方法的建立. *生物工程学报(Chinese Journal of Biotechnology)*, 2005, 21(2): 294 – 299.
- [21] Boekema BKH, Stockhofe-Zurwieden N, Smith HE, et al. Adherence of *Actinobacillus Pleuropneumoniae* to primary culture of porcine lung epithelia cells. *Veterinary Microbiology*, 2003, 93(2): 133 – 144.
- [22] Jeannotte ME, Abul – Milh M, Dubreuil JD, et al. Binding of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to phosphatidylethanolamine. *Infection and Immunity*, 2003, 71(8): 4657 – 4663.
- [23] Stevenson A, Macdonald J, Robert M. Cloning and characterization of type 4 fimbrial genes from *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Microbiology*, 2003, 92: 121 – 131.
- [24] Boekema BKH, Van Putten JPM, Stockhofe-Zurwieden N, et al. Host cell contact-induced transcription of the type IV fimbria gene cluster of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Infection and Immunity*, 2004, 72: 691 – 700.
- [25] Fuller TE, Shea RJ, Thacker BJ, et al. Identification of *in vivo* induced genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbiology Pathogen*, 1999, 27(5): 311 – 327.
- [26] Balter N and Gerlach GF. Identification of genes transcribed by *Actinobacillus pleuropneumoniae* in necrotic porcine lung tissue by using selective capture of transcribed sequences. *Microbial Pathogenesis*, 2004, 27: 311 – 327.
- [27] Wanger TK and Mulks MH. A subset of *Actinobacillus pleuropneumoniae* *in vivo* induced promoters respond to branch-chain amino acid limitation. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2006, 192 – 204.
- [28] Balter N, Buettner FFR, Gerlach GF. Selective capture of transcribed sequences (SCOTS) of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the chronic stage of disease reveals an HlyX-regulated autotransporter protein. *Veterinary Microbiology*, 2007, 123: 110 – 121.
- [29] Deslandes V, Nash. J H, Harel J, et al. Transcriptional profiling of *Actinobacillus pleuropneumoniae* under iron-restricted conditions. *BMC Genomics*, 2007, 8: 72.
- [30] 何启盖, 王贵平, 刘军发, 等. 猪传染性胸膜肺炎放线杆菌的分离鉴定与药敏试验. *中国预防兽医学报(Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine)*, 2003, 25(5): 360 – 363.
- [31] 刘建杰, 何启盖, 陈焕春, 等. 猪胸膜肺炎放线杆菌毒素 I 基因的克隆、表达及其 ELISA 检测方法的建立. *中国农业科学(Scientia Agricultura Sinica)*, 2004, 37(1): 148 – 151.
- [32] 梁望旺, 何启盖, 刘正飞, 等. 猪胸膜肺炎放线杆菌毒素 II 蛋白的表达、纯化及间接 ELISA 检测方法的建立与应用. *中国兽医学报(Chinese Journal of Veterinary Science)*, 2005, 25(2): 145 – 147.
- [33] 陈汉阳, 刘军发, 何启盖, 等. 猪胸膜肺炎放线杆菌毒素 III A 基因的克隆、序列分析及原核表达. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2003, 43(3): 324 – 329.
- [34] Bei W, He Q, Yan L, et al. Construction and characterization of a live, attenuated apxIICA inactivation mutant of *Actinobacillus pleuropneumoniae* lacking a drug resistance marker. *FEMS microbiology letters*, 2005, 243(1): 21 – 27.
- [35] Huang H, Zhou R, Fan H, et al. Generation of monoclonal antibodies and mapping of ApxIV A of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Molecular Immunology*, 2006, 43(13): 2130 – 2134.
- [36] Schmidt HL, Beutin and H Karch. Molecular analysis of the plasmid-coded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infection and Immunity*, 1995, 63: 1055 – 1061.
- [37] Silby MW and Levy SB. Use of *in vivo* expression technology to identify genes important in growth and survival of *Pseudomonas fluorescens* Pf0 – 1 in soil: Discovery of expressed sequences with novel genetics organization. *Journal of bacteriology*, 2004, 186(21): 7411 – 7419.
- [38] Nielsen KK and Boye M. Real-time quantitative reverse transcription-PCR analysis of expression stability of *Actinobacillus pleuropneumoniae* housekeeping genes during *in vitro* growth under iron-depleted conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(6): 2949 – 2954.
- [39] Zhao SH, Rechner J, Lunney JK, et al. Validation of a first generation long-oligonucleotide microarray for transcriptional profiling in the pig. *Genomics*, 2005, 86: 618 – 625.

Interaction between *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX toxin and host-A review

Shengxian Fan, Hui Liu, Yang Chen, Huanchun Chen, Qigai He*

(Key laboratory of Preventive Veterinary Medicine of Hubei Province, Veterinary Medicine College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract : *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) is the etiological agent of porcine pleuropneumonia which causes huge economic losses to the pig industry. RTX (*repeat in the structural toxin* , RTX) is the main virulence-associated factor of the pathogen and , plays a dual role on the pathogen 's infection and immunity. Recently research progress is updated in this paper and the necessity and techniques to initiate the pathogen-host interaction study is also raised and discussed. It is believed that the research on the interaction between host and App RTX may further elucidate the pathogen 's molecular pathogenesis.

Keywords : actinobacillus pleuropneumoniae ; RTX toxin ; proteins interaction ; molecular mechanism of pathogenesis

(本文责编 : 王晋芳)

Supported by the 11th-five Scientific and Technology Project of the Science and Technology Ministry of China (2006BAD06A12) and by the Key Grant of Natural Science Foundation of China (30530590)

*Corresponding author. Tel : + 86-27-87286974 ; Fax : + 86-27-87282608 ; E-mail : heqigai@yahoo.com

Received : 27 July 2008/ Revised : 30 September 2008

本刊荣获 2008 年度‘中国精品科技期刊’称号



2008 年 12 月 9 日中国科学技术信息研究所在北京国际会议中心召开的“中国科技论文统计结果发布会”上《微生物学报》被评为 2008 年度中国精品科技期刊。

据中国科学技术信息研究所 2008 年 11 月公布的统计结果,我国大陆的科技期刊已达 6082 种、中国科技核心期刊 1765 种,此次“精品科技期刊服务与保障系统项目组”评选出 323 种精品科技期刊。

《微生物学报》能够获得此项殊荣,是广大作者、专家共同努力的结果,在此表示衷心的感谢! <http://journals.im.ac.cn>