

J亚群禽白血病研究进展

史 惠 (福建省动物疫病预防控制中心 福建 福州 350003)

禽白血病中分离自鸡的有6个亚群,即A、B、C、D、E和J亚群。J亚群禽白血病(Subgroup J Avian Leukosis)由J亚群禽白血病毒(Avian Leukosis Virus Subgroup J, ALV-J)引起的一类禽类传染性肿瘤疾病,是Pay L N及其同事于1989年首次从肉种鸡群中分离出来的。根据病毒在不同遗传型鸡胚成纤维细胞上的宿主范围、与相同或不同亚群成员的干扰谱、病毒诱导的中和抗体,将其定名为禽白血病J亚群。该病于1988年首次发现于英国,随后许多国家和地区均有该病的报道,给世界养禽业带来了严重的危害。我国也于1999年首次分离到了ALV-J,而1999年~2002年是我国J亚群白血病的发病高峰期,随后ALV-J进一步向中国地方鸡种蔓延。本文对近几年来国内外对J亚群白血病的研究进行了综述。

1 病原学及分子病毒学

ALV-J为RNA病毒,属反转录病毒科,禽白血病肉瘤病毒群。其基因组全长约7.6 kb~7.8 kb之间,本身可直接作为mRNA来编码蛋白质。病毒粒子近似球形,20面体对称,由外部的囊膜和内部的电子致密的核心构成,直径约为100 nm。

ALV-J病毒复制是在反转录病毒的指导下合成DNA前病毒,前病毒以线性形式整合入宿主细胞基因组,然后产生前体蛋白和成熟蛋白并组成病毒粒子。ALV-J基因组主要含有3个基因,即gag、pol和env。其特征性序列为5'-gag-pol-env-3',两端为长末端重复序列(long terminal repeat, LTR),ALV-J的LTR成分较为保守,病毒的囊膜包含env基因编码的2个糖蛋白gp85和gp37, gp85负责识别靶细胞膜上的特异性病毒受体,是外膜蛋白; gp37负责将病毒转入细胞,是病毒的跨膜蛋白。该病毒核衣壳的蛋白质由gag基因编码,包括主要的群特异性抗原;包膜由env基因编码;逆转录酶由pol基因编码。ALV-J的gag和pol基因相对保守,而与其他反转录病毒的env基因一样,ALV-J的包括gp85在内的env基因具有高度的突变倾向,康普顿研究证明,白血病J型病毒是外源性禽白血病毒与存在于所有鸡体内的内源性呼肠病毒的EAV科囊膜样遗传序列之间进行遗传重组而成为一种新病毒。

2 流行病学及危害

有研究表明,ALV-J能感染多种禽类的细胞培养物,但对哺乳动物细胞不易感染,临床上,ALV-J的自然感染基本上都出现在肉用型鸡群,包括肉种鸡和商品代肉鸡,当然也有蛋鸡在自然感染条件下发生J亚群禽白血病。ALV-J主要是引起肉用型鸡发生髓细胞瘤和其它多种恶性肿瘤,并且主要发生于5周龄的鸡,死亡高峰时致死率每月可达6%。和世界上其他一样,我国的ALV-J主要是引发白羽肉鸡的髓细胞组织增生。但最近几年也有ALV-J发生在一些北方地区的商品代蛋鸡和黄鸡的报道。随着世界性地采取一系列清除措施,ALV-J引发的白羽肉鸡发生肿瘤已不多见,但是最近几年关于我国地方品系发生肿瘤的报道日渐增多。

与经典的ALV相比,ALV-J以垂直传播为主,也可通过与被感染鸡或被污染的环境直接接触而水平传播,另外还可通过干细胞而进行遗传性传播。ALV-J发生在孵化期间的水平传播在肉鸡更为广泛。witter等(2000)的研究表明,

在商品肉种鸡中ALV-J的病毒血症几率从孵出时9%到4周龄时为88%;约50%的水平感染鸡成为持续的病毒血症,25%的母鸡将病毒经蛋传播给子代。这些因接触而感染的雏鸡,也可表现不产生相应抗体的病毒血症,但其他一些雏鸡则可发生免疫反应。另外,ALV-J感染可引起鸡对特定疫苗的免疫抑制并引起中枢免疫器官萎缩,常继发其他肿瘤性或细菌性疾病,使鸡群的死亡率显著上升。同时ALV-J容易与其他ALV重组成新病毒,且与REV共感染的现象要引起特别重视。

3 临床症状及病理变化

鸡初次感染ALV-J时并无明显的临床症状,临床影响可能主要包括体重抑制、生产性能受到影响。也可能表现为嗜睡、鸡冠苍白、头部、胸骨异常隆起等,ALV-J亚型病毒的靶细胞为骨髓细胞,因此,ALV-J亚型所致肿瘤多为骨髓细胞瘤或成髓性白血病,骨骼肿瘤通常为弥漫性或结节状分布,颜色呈黄白色或者灰白色,质地脆弱似奶酪样。据报道在商品蛋鸡中还有复杂的多种肿瘤共存的现象,不仅在肝脏、脾脏和肾脏中出现和白羽肉鸡一样的骨髓样细胞肿瘤,而且还在胸腺和法氏囊也出现了在白羽肉鸡中未曾报道过的典型的骨髓样细胞瘤,这说明ALV-J在我国的蛋鸡群体内正发生着不为人知的复杂变化。一些免疫组化结果也说明AIV-J的组织嗜性发生了扩展,除了通常感染的组织外,在肠腺上皮细胞、腺胃腺小管上皮细胞及网状细胞也出现了阳性反应,但有阳性强弱不同,说明该病毒对不同组织感染程度不同,或许与它对组织的嗜性有关。而通过对肿瘤结节、心、肝、脾、肺、肾等内脏器官组织的病理切片观察,可见数量不等、局灶性或单个散在的髓细胞样肿瘤细胞,瘤细胞形态基本一致,体积较大,呈圆形,胞浆内有大量圆形嗜酸性颗粒;具有特征性,易与REV和MDV诱发的肿瘤细胞区别。且核较大,常偏于一侧,呈圆形、椭圆或不规则圆形,常有一明显的核仁。

4 诊断及检测

ALV-J在鸡群中的感染可根据肉眼病变和病例组织学检查进行肿瘤鉴定而作出初步诊断。目前针对ALV-J的诊断方法有组织病理学检测、病毒分离与鉴定、ELISA诊断方法以及病毒核酸检测技术等。组织病理学检测即对患鸡组织病料进行H-E染色切片,检测ALV-J特异的组织学病变;病毒分离即通过能抵抗内源性E亚群禽白血病毒的鸡胚成纤维细胞(C/E)培养技术,对患病鸡的肿瘤、血清或泄殖腔拭子中的ALV-J进行分离和鉴定;ELISA诊断方法即使用针对核心蛋白P27的ELISA方法对患病鸡群的卵蛋白、胎粪、泄殖腔棉拭在内的多种样品进行检测,以多次随机取样获得的阳性结果急速上升为指标,确定ALV病毒的感染,还有一种是使用针对于病毒囊膜蛋白gp85的ELISA诊断技术对患病鸡进行血清学检测,了解鸡群中ALV-J感染(或曾经感染)的状况。核酸检测技术主要采用斑点杂交法和PCR检测技术。PCR检测主要是设计引物扩增env基因,王增福等(2005)通过PCR扩增方法将1999~2003ALV-J野毒株gp85基因的变异趋势进行了阐明,并进一步证明变异区主要集中在区h11、h12和hr3。

神经干细胞研究进展及其在环境兽医学中的应用

张侃侃 任峰君* 郝 婧 刘双玲 王 冲

(山西农业大学动物科技学院 山西 太谷 030801)

1992年,Reynolds等最先从成年鼠的纹状体和海马中分离出能够进行自我更新、不断分裂增殖且具有多种分化潜能细胞群落,由此提出了神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的概念,从而打破了多年来人们一直信为中枢神经细胞是在胚胎时期产生的,成年以后神经细胞的数目不再增加,只会因衰老而发生死亡的论断。Mckay于1997年在Science杂志上将神经干细胞的概念总结为:具有分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞的能力,能自我更新并足以提供大量脑组织细胞的细胞。总之,正因为干细胞具有自我更新能力、多能性或全能性、整合性和转分化性、低免疫原性等特性,所以有着非常重要的理论研究和临床应用价值。

1 神经干细胞的来源及分布

神经干细胞可来源于胚胎干细胞和成年干细胞,前者包括早期胚胎细胞和胎儿神经组织细胞,后者包括存在于成年神经组织中的干细胞和从其他组织中分化得到的干细胞。Bain等将胚胎干细胞悬浮培养成胚体,随后加入维甲酸继续培养,结果培养的细胞进一步分化且出现具有神经细胞结果的特征。Thomson等所发现小鼠胚胎干细胞及灵长类(包括人类)的胚胎干细胞具有相同的分化为神经干细胞的潜能;Mckay等报道成年脑和脊髓的确存在有可以分化成神经元、

星形胶质细胞和少突胶质细胞的神经干细胞。现已发现啮齿类动物胎脑的广泛部位,成鼠的纹状体、海马齿状回、嗅球、脊髓、人胎脑的皮质、间脑、端脑、脑干、腰脊髓、肾上腺髓质及成人脑的嗅球、侧脑室壁、室管膜下区、大脑白质、海马等部位都有NSCs的存在。研究也发现在成熟脑海马齿状回的颗粒细胞下层、室下带和脊髓的室管膜下带存有NSCs。在成熟中枢神经系统的不同区域存在着神经发生。

2 神经干细胞的分化及其调节

在脑的发育过程中,NSCs增殖、迁移、分化为特定的细胞系。目前已经明确成体中枢神经系统中存有NSCs,NSCs向神经元和星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞神经胶质谱系分化是由特定的信号级联决定的,这种信号级联调节不同转录因子的活化,且有多种细胞因子和化学物质参与调节NSCs增殖、迁移和分化。但是其机制与影响因素也是非常复杂的。

3 神经干细胞的体外培养

3.1 原代取材

对受孕14d的SD大鼠颈脱颈致死在严格的无菌条件下剖腹取出胎鼠,以75%乙醇浸泡消毒,PBS冲洗2次,解剖显微镜下剪去头皮和脑膜,分离前脑组织,加少量PBS剪碎,加入0.05%胰蛋白酶和0.4%Ⅱ型胶原酶混和液,机械吹打20次,37℃下消化10min,加10%胎牛血清的DMEM/F12培养液终止消化,100目滤网过滤,1200 r/min离心6min,弃上

* 为通讯作者。

5 预防及控制

目前为止,对ALV-J的发病鸡未发现有效的治疗措施,对ALV-J的感染尚无有效的商品化疫苗,即使应用适当疫苗,但先天性感染的雏鸡具有免疫耐受性,也不能获得较高的免疫保护力,这些鸡仍然是ALV-J传播的主要传染源。研究表明,ALV-J的中国流行株与国外毒株,甚至国内毒株抗原性变化差异大,近几年,由于加强了白血病的净化工作,ALV-J的发病率有所降低,但这种选择压力的存在,可能会促使病毒进一步重组(突变),从而导致宿主范围的扩展,研究也表明抗体免疫选择压力作用会加速鸡J亚群白血病病毒gp85基因的变异。所以即使将来研制出抗ALV-J疫苗,单靠一种基因型或抗原型疫苗也是不足于有效预防不同抗原性野毒的。

目前国外主要是依靠净化种鸡群的办法来控制 and 清除ALV-J。两个途径包括:一是检测母鸡来挑选无ALV-J感染的健康鸡群。二是从母鸡、种蛋、鸡胚和雏鸡四个方面来净化。也许对于中国的商品代鸡群以及地方品系完全实施ALV-J的净化是艰难和不可能完全实现的。尽管如此,净化工作仍是防制本病最有效的措施。因此,根除ALV-J的最好办法是加强早期检测以建立无J亚群白血病的种鸡群、做好鸡群常见病的免疫、改善饲养环境,防止ALV-J进一步向中国地方鸡种蔓延。

参考文献

- [1]商营利,刘思当.J亚群白血病的研究进展[J].山东家禽,2002,(5):43~46.
- [2]贾纯琰,张莉,李永清,等.J亚群禽白血病病毒gp85基因的克隆与表达[J].动物医学进展,2008,29(5):7~9.

- [3]Bai J.,Payne L.N.,Skinner M.A.,et al. HPRS-103(exogenous avian leucosis virus, subgroup J) has an env gene related to those of endogenous elements EAV-0 and E51 and E element found previously only in sarcoma virus. Virology,1995,59(2):779~784.
- [4]冯小宇,徐筱蕊,Lucy F.Lee,等.蛋鸡J亚群禽白血病病毒的分离与初步鉴定[J].中国兽医杂志,2008,44(1):43.
- [5]崔治中,张志,杜岩.我国肉用型鸡群中J亚群白血病流行现状的调查[J].中国预防兽医学报,2002,24(4):292~294.
- [6]李晓奇,王凤武,银永峰.内源性ALV-J病毒及gp85基因的分子生物学研究进展[J].畜牧与饲料科学,2007,(6):47~49.
- [7]付朝阳,高友兰,王笑梅.肉种鸡群中J亚群禽白血病的危害和净化[J].畜牧兽医科技信息,2003,19(3):7~9.
- [8]徐筱蕊,董卫星,余春明.蛋鸡J亚群禽白血病的分子生物学诊断[J].病毒学报,2005,21(4):289~292.
- [9]王玲,遇欣.J亚群禽白血病研究进展[J].山东畜牧兽医,2006,(5):48~49.
- [10]朱其太.J型禽白血病[J].中国兽医杂志,2000,26(6):56.
- [11]Pandiri A.R.,Gimeno I.M.,Reed W.M.,et al. Subgroup J avian leukosis virus induced histiocytic sarcomatosis occurs only in persistently viremic, but not immunotolerized meat-type chickens. Vet pathol,2009,46(2):282~287.
- [12]孙淑红.禽网状内皮组织增殖病病毒与J-亚群白血病病毒的致病性及其疫苗研究.山东农业大学博士论文,2007.
- [13]成子强,张利,刘思当,等.中国麻鸡中发现禽J亚群白血病[J].微生物学报,2005,45(4):586.
- [14]王增福,崔治中.在抗体免疫选择压作用下鸡J亚群白血病病毒gp85基因的变异[J].生命科学,2006,36(1):9~16.
- [15]Epidemiological and pathological studies of subgroup J avian leukosis virus infections in Chinese local "yellow" chickens. Avian Pathol,2007,36(3):221~226.
- [16]Louis Van der Heide 著.高云摘,译.J亚型禽白血病研究进展[J].国外畜牧科技,1999,26(5):44~45.