

## 抗猪 FcγR II b 多抗阻断猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体依赖增强作用研究

蒋志政<sup>1,2</sup>, 张改平<sup>2</sup>, 刘明阳<sup>1</sup>, 乔松林<sup>2</sup>, 刘永晖<sup>1</sup>, 王蕊<sup>1</sup>, 万博<sup>2</sup>, 鲍登克<sup>2</sup>, 王爱萍<sup>1\*</sup>

(1. 郑州大学 生物工程系, 河南 郑州 450001;

2. 河南省农业科学院 农业部动物免疫学重点开放实验室/河南省动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 为验证猪 FcγR II b 在抗体依赖增强(ADE)作用中的功能, 从猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)阳性血清中提取 IgG 并制备 F(ab')<sub>2</sub> 片段, 将 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> 的 PRRSV 病毒与 80 μg/mL 的 F(ab')<sub>2</sub> 片段或抗 PRRSV 阳性血清(中和效价 1/5, 9, 经 128 倍稀释)混合, 共同感染猪肺泡巨噬细胞(PAM)和 Marc-145 细胞, 发现亚中和滴度的阳性血清能显著增强病毒对 PAM 的感染, 但不能增强病毒对 Marc-145 细胞的感染; 而 F(ab')<sub>2</sub> 片段不能增强病毒感染; 用兔抗猪 FcγR II b 多抗孵育 PAM 细胞, 再用上述病毒与阳性血清复合物感染 PAM, 结果阳性血清对病毒感染的增强作用受到明显抑制。表明猪 FcγR II b 能够介导 PRRSV ADE 作用。

**关键词:** 抗体依赖增强(ADE); 阻断; IgG Fc 受体; 猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV); 感染  
**中图分类号:** S858.28 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)04-0139-05

## Inhibition of Antibody-dependent Enhancement of PRRSV Infection by Anti-poFcγR II b Polyclonal Antibodies

JIANG Zhi-zheng<sup>1,2</sup>, ZHANG Gai-ping<sup>2</sup>, LIU Ming-yang<sup>1</sup>, QIAO Song-lin<sup>2</sup>, LIU Yong-hui<sup>1</sup>,  
WANG Rui<sup>1</sup>, WAN Bo<sup>2</sup>, BAO Deng-ke<sup>2</sup>, WANG Ai-ping<sup>1\*</sup>

(1. Department of Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

2. Key Laboratory of Animal Immunology of the Ministry of Agriculture, Henan Provincial Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to elucidate the role of porcine FcγR II b in antibody-dependent enhancement (ADE), F(ab')<sub>2</sub> fragments were generated from the IgG of anti-PRRSV sera. 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> of PRRSV BJ-4 virions were pre-incubated with the F(ab')<sub>2</sub> fragment (80 μg/mL) or anti-PRRSV sera (neutralizing antibody titer 1/5, 9, 1/128 diluted), and then the opsonised virions were added to either porcine alveolar macrophages (PAMs) or Marc-145 cells. Sub-neutralizing antibodies observably enhanced the PRRSV infection in PAMs. No enhancement was observed in the normal Marc-145 cells and the F(ab')<sub>2</sub> fragment had no effect on any cell lines. PAM cells were incubated with anti-poFcγR II b polyclonal antibodies and were then infected with PRRSV in the presence of anti-PRRSV antibody. Anti-poFcγR II b antibody inhibited the enhancement of infection when cells were infected in the presence of anti-PRRSV antibody, indicating that poFcγR II b can mediate ADE of PRRSV infection. This research should expand our understanding of the mechanisms of pathogenesis of PRRSV.

**Key words:** antibody-dependent enhancement; inhibition; IgG Fc receptors (FcγRs); porcine reproductive and respiratory syndrome virus; infection

收稿日期: 2011-12-26

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30730068)

作者简介: 蒋志政(1986-), 男, 辽宁东港人, 在读硕士研究生, 研究方向: 病毒分子致病机制。E-mail: Jazz86@126.com

\* 通讯作者: 王爱萍(1970-), 女, 青海西宁人, 教授, 主要从事动物免疫学研究。E-mail: pingaw@126.com

猪繁殖与呼吸综合征给世界上许多养猪国家都带来了重大经济损失<sup>[1]</sup>。猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)是一种套式正链 RNA 病毒,属动脉炎病毒科<sup>[2]</sup>,巨噬细胞和树突状细胞是该病毒的主要宿主细胞<sup>[3]</sup>。抗体依赖增强(ADE)作用是指某些病毒用相应抗体处理后,其复制或感染能力显著增强。ADE 广泛存在于登革热病毒(DV)、日本脑炎病毒(JEV)和盖他病毒(GV)等许多病毒的感染过程中,为这些病毒疫苗的研制和开发带来了很大的阻碍<sup>[4]</sup>。研究表明,PRRSV 中也存在 ADE 作用。将 PRRSV 和亚中和水平的 PRRSV 抗体混合后感染猪肺泡巨噬细胞,收获的病毒量比空白对照高 10~100 倍;用抗体处理过的 PRRSV 接种妊娠母猪与单独接种 PRRSV 相比,病毒在胎儿中复制的更多;用 PRRSV 感染断奶仔猪,其临床症状比生长育肥猪严重得多,表明 ADE 在 PRRSV 致病机制中起重要作用<sup>[5]</sup>。

Fc 受体(FcR)是一种广泛表达于免疫细胞表面,特异亲和免疫球蛋白(Ig) Fc 片段的细胞表面分子。Fc 受体通过与 Ig Fc 区域结合,参与 Ig 介导的生理功能,触发和调控机体多种免疫学效应<sup>[6]</sup>。对于人和小鼠的 4 类 IgG Fc 受体研究最为深入,即 FcγR I (CD64)、FcγR II (CD32)、FcγR III (CD16)和 FcγR IV。根据不同功能可将 FcγRs 分为活化型受体和抑制型受体。FcγR II A 的胞内区,FcγR I、FcγR III 和 Fcγ2R 的 γ 链含有基于酪氨酸的受体活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM),能活化免疫效应细胞,诱导吞噬作用、抗体依赖细胞毒作用、补体依赖细胞毒作用等多种免疫学效应<sup>[7-8]</sup>。FcγR II b 是目前发现的唯一的抑制型受体,其胞内区含有基于酪氨酸的受体抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM),通过免疫复合物与活化型受体交联,抑制 ITAM 基序介导的细胞活化<sup>[9-10]</sup>。先前的研究已经证明,猪 FcγR II b 的基因序列与人和鼠的 FcγR II b 高度同源,胞内区也含有 ITIM,故猪 FcγR II b 可能也具有相同的抑制作用<sup>[11]</sup>。活化型 Fc 受体 FcγR I 和 FcγR II a 已经被证明可以促进登革热病毒在人巨噬细胞中的感染<sup>[12-14]</sup>,抑制型受体在 ADE 作用中的功能尚不明确。本研究旨通过兔抗猪 FcγR II b 多抗对 PRRSV ADE 作用阻断试验,探讨抑制型受体 FcγR II b 在 ADE 作用中的功能,对进一步了解 ADE 作用机制有重要意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 病毒、血清和多抗 PRRSV BJ-4 株病毒由中国农业大学杨汉春教授惠赠。兔抗猪 FcγR II b 胞外重组蛋白多抗按文献<sup>[15]</sup>的方法制备保存。BJ-4 阳性血清、PRRSV 阴性猪血清由河南省动物免疫学重点实验室保存。

1.1.2 细胞 Marc-145 细胞由河南省动物免疫学重点实验室保存。

1.1.3 主要试剂 DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基购自美国 GIBCO 公司;新生牛血清购自杭州四季青生物公司;胃蛋白酶购自苏州东吴医用生化制品厂;Protein A、DEAE-52 购自北京索莱宝生物科技有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 Marc-145 细胞的培养和病毒的增殖 Marc-145 细胞用含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养基在 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。待细胞贴壁长满单层后,用 3 mL 含 0.25% 的胰蛋白酶和 0.02% 的 EDTA 的 PBS 进行消化,移入新瓶以传代。待细胞 90% 融合时可接种病毒。接病毒时弃去培养基,用无菌 PBS 轻轻漂洗 2 次,加入 2 mL 经适当稀释的 PRRSV 病毒,于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下吸附 1 h,补加 8 mL 含 2% 新生牛血清的 DMEM 培养基继续培养。待 70%~80% 细胞出现病变时,将细胞瓶于 -20 ℃ 下反复冻融 3 次,4 ℃、4 000 r/min 离心 15 min<sup>[16]</sup>,将上清分装后,-80 ℃ 条件下冻存备用。

1.2.2 病毒 TCID<sub>50</sub> 的测定 将 Marc-145 细胞以  $0.5 \times 10^5$  个/mL、100 μL/孔铺 96 孔细胞培养板,置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养至细胞铺满单层的 70%~80% 时,弃去培养基,用 PBS 将细胞轻轻漂洗细胞 2 次。用不含血清的 DMEM 培养基将病毒做  $10^{-10}$ ~ $10^{-1}$  连续稀释,将 100 μL 每个稀释度的病毒接种至上述细胞培养板中,共接 8 个细胞孔,同时设置 2 列无病毒空白细胞对照,置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中吸附 1 h 后,每孔补加 100 μL 含 4% 新生牛血清的 DMEM 维持液,继续置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养。每 24 h 观察并记录细胞出现病变的情况,按照 Reed-Muench 法计算病毒半数细胞培养物感染量(TCID<sub>50</sub>)<sup>[16]</sup>。

1.2.3 猪肺泡巨噬细胞(PAM)的采集 按照参考文献<sup>[17]</sup>的方法分离 PAM。用含 10% DMSO 的新生牛血清悬起细胞,分装于液氮冻存备用。

### 1.2.4 PRRSV BJ-4 阳性血清中和效价的检测

用细胞计数法将 Marc-145 细胞用培养基稀释至  $0.5 \times 10^5$  个/mL, 100  $\mu$ L/孔接种于 96 孔细胞培养板, 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养过夜, 待细胞长至细胞瓶的 70%~80% 时, 倒去培养基, 用 PBS 将细胞轻轻漂洗 2 次。将阳性血清(56  $^{\circ}$ C 下灭活 30 min) 做连续倍比稀释, 由 2 倍稀释直至到 64 倍稀释, 并与等量的 200 TCID<sub>50</sub> 的病毒液混匀, 37  $^{\circ}$ C 下作用 60 min 后加入至 96 孔细胞板中, 每孔 100  $\mu$ L, 每个稀释度 4 孔。同时设待检血清对照、阴性血清对照、病毒对照和正常细胞对照。其中病毒对照组设 200 TCID<sub>50</sub>、20 TCID<sub>50</sub>、2 TCID<sub>50</sub>、0.2 TCID<sub>50</sub> 4 个不同滴度。将细胞板继续放入培养箱中培养 1 h 后弃上清, 加入含 2% 新生牛血清的 DMEM 培养基至 200  $\mu$ L/孔继续培养。逐日观察并记录结果, 计算半数保护量(PD<sub>50</sub>)。

1.2.5 猪 IgG 的提取和纯化 采用辛酸-硫酸铵法从 PRRSV 阳性血清中提取 IgG, 获得蛋白经 DE-AE-52 纤维素柱纯化, SDS-PAGE 电泳鉴定, 测定蛋白含量, 冻存备用。

1.2.6 F(ab')<sub>2</sub> 片段的制备 用 0.2 mol/L 的醋酸钠缓冲液(pH 值 4.0)将提纯的 IgG 在 4  $^{\circ}$ C 条件下透析过夜。将胃蛋白酶与 IgG 按质量浓度比 1/20 混合, 37  $^{\circ}$ C 下水浴 6 h。加入 3 mol/L Tris 碱溶液(pH 值 8.0~9.0), 直到 pH 值为 8.0。用 0.1 mol/L、pH 值 8.0 的 PBS 缓冲液 4  $^{\circ}$ C 下透析过夜。用 protein A 蛋白层析柱去掉 Fc 片段和未完全酶切的 IgG, 具体方法参照 protein A 使用说明书。纯化后的 F(ab')<sub>2</sub> 经 SDS-PAGE 电泳鉴定。

1.2.7 F(ab')<sub>2</sub> 片段对 ADE 作用的影响 将 Marc-145 细胞稀释至  $1 \times 10^5$  个/mL, 500  $\mu$ L/孔接种到 24 孔细胞培养板中, 同时用含 10% 新生牛血清的 1640 培养基将  $10^6$  个/mL PAM 细胞接种到 24 孔板中。将细胞板置于细胞培养箱中 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养过夜。待细胞铺满细胞孔的 70%~80% 时, 吸去培养基, 用无菌 PBS 轻轻漂洗 2 次。用无血清 DMEM 将 PRRSV 阳性血清和阴性血清(均 56  $^{\circ}$ C 下作用 30 min 以消除补体作用)稀释至 1/128, 将 F(ab')<sub>2</sub> 片段(用 0.2  $\mu$ m 滤膜过滤)稀释至 80  $\mu$ g/mL, 分别与  $10^4$  TCID<sub>50</sub> 的 PRRSV 等体积混合, 37  $^{\circ}$ C 下作用 1 h 后加入 24 孔细胞培养板中, 每孔 500  $\mu$ L, 使每种细胞均感染上述 3 种混合物。37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下感染 1 h 后弃上清, 加入含 2% 新生牛血清的培养基维持液至 1 mL/孔。37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 48 h 后收毒, 测各孔

TCID<sub>50</sub>。重复 3 次, 统计每次试验结果。

### 1.2.8 poFcγRⅡb 多抗阻断 PAM 介导 ADE 作用

用含 10% 新生牛血清的 1640 培养基将 PAM 细胞稀释至  $10^6$  个/mL, 500  $\mu$ L/孔接种到 24 孔细胞培养板中, 置于 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱中培养过夜。待细胞贴壁牢固, 吸去培养基, 用无菌 PBS 轻轻漂洗 2 次。向试验组每孔加入 1:100 倍稀释的免抗猪 FcγRⅡ血清(经 56  $^{\circ}$ C 30 min 以消除补体作用), 其余孔加无血清 1640 培养基, 500  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}$ C 下作用 1 h 后倒掉血清和培养基, 用 PRRSV BJ-4 株病毒  $10^4$  TCID<sub>50</sub> 和 1:128 稀释的抗 PRRSV 阳性血清混合, 37  $^{\circ}$ C 下孵育 1 h, 加入细胞板中, 每孔 500  $\mu$ L, 设病毒感染对照。37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 1 h 后, 弃掉病毒与抗体复合物, 加入含 2% 新生牛血清的培养基作为维持液。感染 2 d 后收毒, 用 Marc-145 细胞测定病毒的 TCID<sub>50</sub>, 比较收获病毒量的差异, 确定免抗猪 FcγRⅡ血清对 ADE 效应的阻断作用。

## 2 结果与分析

### 2.1 PRRSV BJ-4 阳性血清中和效价的检测

将 PRRSV 阳性血清(56  $^{\circ}$ C 下灭活 30 min)做连续倍比稀释后与等量的 200 TCID<sub>50</sub> 的病毒液混匀, 37  $^{\circ}$ C 下孵育 60 min 再接种 Marc-145 细胞, 结果当血清稀释度低时, 由于血清对病毒的中和作用, 出现细胞病变(CPE)的孔数很少, 随着血清稀释度的增大, 出现 CPE 的孔数也随之增多, 如表 1 所示。按 R-M 公式计算, 半数保护量 PD<sub>50</sub>=1/5.9, 即 1/5.9 稀释的血清能保护能保护 50% 的细胞不产生病变。

表 1 PRRSV BJ-4 阳性血清的中和效价

血清稀释度	CPE 孔数	无 CPE 孔数	累计 CPE 孔数	累计无 CPE 孔数	保护率/%
1:2 ( $10^{-0.3}$ )	1	3	1	7	87.5
1:4 ( $10^{-0.6}$ )	2	2	3	4	57.1
1:8 ( $10^{-0.9}$ )	3	1	6	2	25
1:16 ( $10^{-1.2}$ )	3	1	9	1	10
1:32 ( $10^{-1.5}$ )	4	0	13	0	0
1:64 ( $10^{-1.8}$ )	4	0	17	0	0

注: 对照组除阴性血清对照 200 TCID<sub>50</sub> 全数病变, 其余对照均无病变。

### 2.2 猪 IgG 的提取和 F(ab')<sub>2</sub> 片段的制备

采用辛酸-硫酸铵法从 PRRSV 阳性血清中提取猪 IgG, 然后用 DEAE-52 纤维素柱进行纯化。纯化过的 IgG 经胃蛋白酶酶切成 Fc 段和 F(ab')<sub>2</sub> 片段, 再用 Protein A 柱提纯去掉 Fc 片段, 即得到纯化的 F(ab')<sub>2</sub> 片段。SDS-PAGE 电泳检查可见(图

1),经 DEAE-52 纯化后获得了较纯 IgG,经 Protein A 柱提纯后获得了纯净的 F(ab')<sub>2</sub> 片段 (30 kD 左右)。

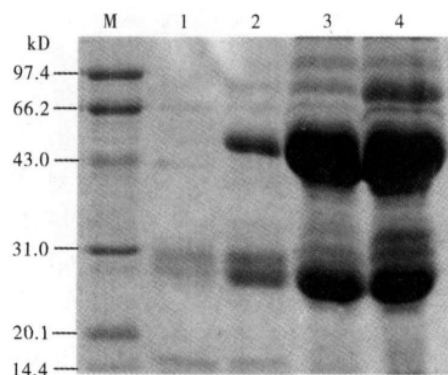


图 1 猪 IgG F(ab')<sub>2</sub> 片段制备与鉴定结果  
M. 标准蛋白 Marker; 1. 经 Protein A 纯化的 F(ab')<sub>2</sub> 片段; 2. 经胃蛋白酶消化的猪阳性 IgG; 3. 经 DEAE-52 纯化过的猪阳性 IgG; 4. 猪阳性血清 IgG

图 1 猪 IgG F(ab')<sub>2</sub> 片段制备与鉴定结果

### 2.3 F(ab')<sub>2</sub> 片段对 PRRSV ADE 作用的影响

将 PRRSV 分别与阳性血清、阴性血清或阳性 IgG 的 F(ab')<sub>2</sub> 片段混合感染 Marc-145 细胞系和 PAM 细胞,结果阳性血清显著增强了 PRRSV 对 PAM 细胞的感染 ( $P < 0.05$ ),而对不含 poFcγR II 的 Marc-145 细胞无显著增强作用 ( $P > 0.05$ )。F(ab')<sub>2</sub> 片段对 2 种细胞均无增强作用 ( $P > 0.05$ ),如图 2 所示。证明 PRRSV 感染的增强作用与 Fc 受体有关。

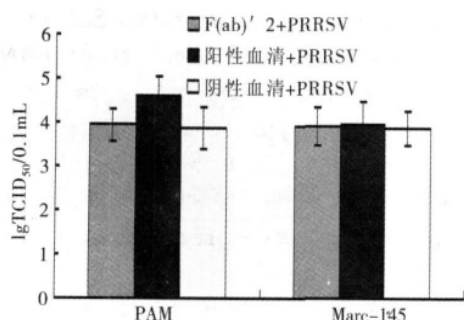


图 2 F(ab')<sub>2</sub> 片段对 ADE 作用的影响

### 2.4 兔抗猪 FcγR II 胞外重组蛋白的多抗阻断 PAM 介导 ADE 作用

将  $10^4$  TCID<sub>50</sub> 的 PRRSV 病毒和 1/128 稀释的抗 PRRSV 阳性血清感染经兔抗猪 FcγR II b 多抗阻断的 PAM 和未经阻断的 PAM,结果阻断组收获的病毒滴度 TCID<sub>50</sub>  $10^{4.19}/0.1$  mL,在未经阻断组收获的病毒滴度 TCID<sub>50</sub>  $10^{4.71}/0.1$  mL 和 PRRSV 单独感染 PAM 获得的病毒滴度 TCID<sub>50</sub>  $10^{3.60}/0.1$  mL 之间(图 3),说明兔抗猪 FcγR II 胞外重组蛋白的多抗可以阻断 PRRSV 的抗体依赖增强作用。

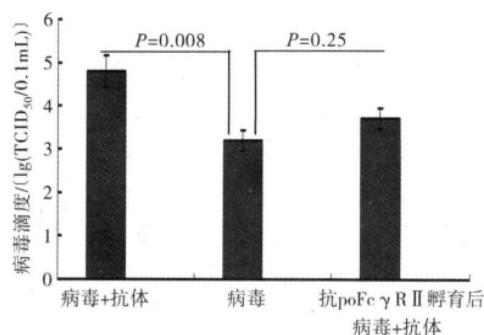


图 3 抗猪 FcγR II 抗体对 PRRSV ADE 阻断作用

## 3 讨论

保护性抗体的产生是许多传染性疾病疫苗发展的基础,然而 20 世纪 60 年代发现的 ADE 作用表明,某些抗体的产生反而会加强病毒的感染。PRRSV 感染猪后会立即引发体液免疫应答,但由于 ADE 作用,猪产生抗体的保护作用大大降低,特别是感染早期产生的非中和抗体引发了 ADE 作用<sup>[18]</sup>。因此,ADE 对 PRRS 防控带来了很大的困难<sup>[19]</sup>。

ADE 的产生与效应细胞表面的 Fc 受体有关。最近的研究证实,FcγR I 和 FcγR II a 均可以介导登革热病毒的 ADE 作用<sup>[12-14]</sup>。目前,抑制型受体 FcγR II 在 ADE 作用中的功能尚无明确报道。在本试验中,亚中和滴度的抗 PRRSV 阳性血清可以显著增强 PRRSV 对 PAM 细胞的感染,但对不含 Fc 受体的 Marc-145 细胞无明显影响。而 F(ab')<sub>2</sub> 片段对这 2 种细胞感染病毒均无增强作用,表明 PRRSV 的 ADE 作用与 Fc 受体有关。为进一步验证猪 FcγR II b 能否介导 PRRSV ADE 作用,用兔抗猪 FcγR II 多抗对 PRRSV 的 ADE 作用进行了阻断,说明 FcγR II b 作为已知的抑制型受体能够介导 PRRSV 的 ADE 作用,从而为揭示 FcγR II 介导 PRRSV ADE 作用的分子机制打下基础。

## 参考文献:

- [1] 刘明,张改平,肖治军,等. PRRSV 河南株 ORF7 基因的克隆表达及条件优化[J]. 河南农业科学,2011,40(1):136-140.
- [2] 曹素芳,李明,王岩,等. 两株高致病性 PRRSV 河南分离株 ORF5 基因克隆及遗传变异分析[J]. 河南农业科学,2009(7):114-119.
- [3] Duan X, Nauwynck H J, Pensaert M B. Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) [J]. Vet Microbiol, 2007,56:9-19.

(下转第 145 页)

- 干苗口服免疫研究[J]. 中国农业科学, 1981, 14(6): 89-94.
- [3] Kennedy M J, Yancey J R, Sanchez M S, *et al.* Attenuation and immunogenicity of  $\Delta cya \Delta crp$  derivatives of *Salmonella choleraesuis* in pigs[J]. Infection and Immunity, 1999, 67: 4628-36.
- [4] Hassan J O, Curtiss R. Construction and evaluation of a delta *cya* delta *crp* *Salmonella typhimurium* strain expressing avian pathogenic *Escherichia coli* O78 LPS as a vaccine to prevent airsacculitis in chickens[J]. Avian Diseases, 1999, 43(3): 429-441.
- [5] Zhang X, Kelly S M, Bollen W S, *et al.* Characterization and immunogenicity of *Salmonella typhimurium* SL1344 and UK-1 delta *crp* and delta *cdt* deletion mutants[J]. Infection and Immunity, 1997, 65(12): 5381-5387.
- [6] Curtiss R, Kelly S M. *Salmonella typhimurium* deletion mutants lacking adenylate cyclase and cyclic AMP receptor protein are avirulent and immunogenic[J]. Infection and Immunity, 1987, 55(12): 3035-3043.
- [7] Rosu V, Chadfield M S, Santona A, *et al.* Effects of *crp* deletion in *Salmonella enterica* serotype *Gallinarum* [J]. Acta veterinaria Scandinavica, 2007, 49(1): 14.
- [8] Uzzau S, Marogna G, Leori G S, *et al.* Virulence attenuation and live vaccine potential of *aroA*, *crp* *cdt* *cya*, and plasmid-cured mutants of *Salmonella enterica* serovar *Abortusovis* in mice and sheep[J]. Infection and Immunity, 2005, 73(7): 4302-4308.
- [9] Lee S K, Newman J D, Keasling J D. Catabolite repression of the propionate catabolic genes in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*: evidence for involvement of the cyclic AMP receptor protein[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(8): 2793-2800.
- [10] Curtiss R, Kelly S M. *Salmonella typhimurium* deletion mutants lacking adenylate cyclase and cyclic AMP receptor protein are avirulent and immunogenic [J]. Infection and Immunity, 1987, 55(12): 3035-3043.
- [11] 徐引弟, 郭爱珍, 刘维红, 等. 猪霍乱沙门氏菌 C500 株  $\Delta crp \Delta asd$  缺失株平衡致死载体系统的构建及鉴定 [J]. 生物工程学报, 2006, 22(3): 366-372.
- [12] 徐引弟, 郭爱珍, 陈焕春. 猪霍乱沙门氏菌 C500 株  $crp^- / gfp^+$  缺失株的构建及鉴定 [J]. 农业生物技术学报, 2008, 16(2): 196-201.
- [13] 徐引弟, 郭爱珍, 贾爱卿, 等. 猪霍乱沙门氏菌的快速分离鉴定 [J]. 畜牧与兽医, 2007, 39(2): 8-11.
- (上接第 142 页)
- [4] Hawkes R A. Enhancement of the infectivity of arboviruses by specific antisera produced in domestic fowls [J]. Aust J Exp Biol Med Sci, 1964, 42: 465-482.
- [5] Yoon K J, Wu L L, Zimmerman J J, *et al.* Antibody-dependent enhancement (ADE) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in pigs[J]. Viral Immunol, 1996, 9(1): 51-63.
- [6] Zhang G. Bovine IgG Fc receptors[D]. Hatfield: University of Hertfordshire, 1994.
- [7] 史平玲, 王爱萍, 乔松林, 等. 家畜 IgG Fc 受体研究进展 [J]. 河南农业科学, 2010(1): 124-128.
- [8] 乔松林, 张改平, 王丽, 等. PCR 克隆高 GC 含量牛 Fc $\gamma$ 2R cDNA [J]. 河南农业科学, 2005(5): 67-69.
- [9] Daeron M. Fc receptor biology[J]. Annu Rev Immunol, 1997, 15: 203-234.
- [10] Ravetch J V, Bolland S. IgG Fc receptors[J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19: 275-290.
- [11] Qiao S, Zhang G, Xia C, *et al.* Cloning and characterization of porcine Fc gamma receptor II (FcgammaR II) [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2006, 114: 178-184.
- [12] Kontny U, Kurane I, Ennis F A. Gamma interferon augments Fc gamma receptor-mediated dengue virus infection of human monocytic cells[J]. J Virol, 1988, 62: 3928-3933.
- [13] Littau R, Kurane I, Ennis F A. Human IgG Fc receptor II mediates antibody-dependent enhancement of dengue virus infection[J]. Immunol, 1990, 144: 3183-3186.
- [14] Rodrigo W W, Jin X, Blackley S D, *et al.* Differential enhancement of dengue virus immune complex infectivity mediated by signaling-competent and signaling-incompetent human Fc gamma RIA (CD64) or Fc gamma R II A (CD32) [J]. J Virol, 2006, 80: 10128-10138.
- [15] Tian X, Wang A, Qiao S, *et al.* Expression, purification and characterization of a functional extracellular domain of porcine Fc gamma R II [J]. Protein Expr Purif, 2009, 68: 12-17.
- [16] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997.
- [17] 冯丽丽, 张丽萍, 张改平, 等. 脂多糖对猪肺泡巨噬细胞分泌 IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  的影响 [J]. 河南农业科学, 2009(3): 106-109.
- [18] Murtaugh M P, Xiao Z, Zuckermann F. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection [J]. Viral Immunol, 2002, 15: 533-547.
- [19] Cancel-Tirado S M, Yoon K J. Antibody dependent enhancement of virus infection and disease [J]. Viral Immunol, 2003, 16: 69-86.