

文章编号: 1004-0374(2012)04-0305-05

· 评述与综述 ·

禽白血病病毒研究的过去、现在和将来

崔治中

(山东农业大学动物医学院, 泰安 271018)

摘要: 简要介绍了鸡的重要的肿瘤性病毒禽白血病病毒 (ALV) 研究的历史及其在现代分子生物学研究进展中的作用。对近 10 多年来, ALV 在国内外鸡群中, 特别是我国鸡群中的流行动态及相关研究做了综述。在此基础上, 对 ALV 及其相关肿瘤方面有待进一步深入研究的目标和内容提出了展望。

关键词: 禽白血病病毒; 肿瘤; 病理发生

中图分类号: S858.31 **文献标志码:** A

The past, present and future in the studies of avian leukosis viruses

CUI Zhi-Zhong

(College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: In this review paper, we described the history in studies of the avian leukosis viruses (ALV), an important oncogenic virus in chickens, and its roles in modern molecular biology. A review was also made for epidemic situations of ALV infections in chickens abroad and especially in China during the recent ten years. Then the objectives and aspects for the further studies on ALVs and related tumorigenesis are suggested.

Key words: avian leukosis virus; tumors; pathogenesis

鸡是地球上大批饲养的动物中肿瘤自然发病率最高的一个物种, 而且主要是由病毒感染诱发的肿瘤。为此, 在教育部、科学技术部、中国科学院和国家自然科学基金委联合开展的“10 000 个科学难题”征集活动中, 我们建议将“鸡为什么易发多种病毒性肿瘤”也作为一个科学问题, 并选录在“10 000 个科学难题”农业科学卷^[1]。其中, 禽白血病病毒 (avian leukosis virus, ALV) 被列在首位。ALV 是在鸡群中普遍存在并常诱发肿瘤的三大类病毒之一。ALV 是一类反转录病毒, 曾被病毒诱发肿瘤及肿瘤基因等方面的现代分子生物学研究作为重要素材, 并发挥了重要作用。

1 ALV在肿瘤性病毒研究中曾发挥的重要作用

1.1 ALV是第一个证明可诱发肿瘤的病毒

肿瘤的发病原因一直是医学和生物学界最关心的课题之一。早在 1911 年, Rous 发现并报道了用鸡肉瘤的无细胞滤液接种鸡可诱发同样类型的急性肿瘤。后来证明, 该滤液中致肿瘤的就是后来称

之为罗斯肉瘤病毒 (Rous sarcoma virus) 的一种 ALV。为此, Rous 在 1966 年获得了诺贝尔奖。在 2011 年 11 月出版的美国 *Journal of Experimental Medicine (JEM)* 上发表了题为“100 years of Rous sarcoma virus”的评论。在其摘要中写道: Peyton Rous 于 100 年前在 *JEM* 上报道的罗斯肉瘤病毒的发现, 开拓了肿瘤病毒学这一领域。这一发现证明了某些肿瘤有传染性病原, 导致进一步发现了肿瘤基因, 从而为肿瘤发生的分子机制研究奠定了基础^[2]。

1.2 从RSV中发现肿瘤基因

通过对 RSV 的研究, Temin 和 Baltimore 发现了反转录病毒在复制过程中的前病毒 DNA(cDNA) 阶段及与此相关的反转录酶, 证实了前病毒 DNA 可整合进宿主细胞基因组, 由此获得 1975 年的诺

收稿日期: 2011-12-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31172330)

通信作者: E-mail: zzcui@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8241560

贝尔奖^[3]。在此基础上, Bishop 和 Varmus 发现, 在 RSV 这类急性致肿瘤 ALV 中存在着肿瘤基因, 这类病毒肿瘤基因来源于正常鸡和其他动物及人基因组上的原癌基因 (proto-oncogenes), 为此, 他们获得了 1989 年诺贝尔奖^[4]。迄今为止, 已在诱发多种不同细胞类型的急性致肿瘤 ALV 中发现了多个肿瘤基因, 它们分别分布于几个不同亚群的 ALV 中。例如: 转化成纤维细胞形成肉瘤的 *src*、*fps*、*yes*、*ros*、*eyk*、*jun*、*qin*、*mat*、*crk* 基因; 转化成红细胞或成纤维细胞诱发成红细胞增多症或肉瘤的 *erbA*、*erbB*、*sea* 基因; 转化成髓细胞或成红细胞而诱发成髓细胞增多症或成红细胞增多症的 *myb*、*ets* 基因; 转化不成熟巨噬细胞或成纤维细胞为髓细胞瘤或上皮细胞瘤的 *myc*、*mll* 基因等^[5]。这些肿瘤基因产物在宿主细胞中分别是细胞生长因子或生长因子的细胞表面受体或转录因子。

2 ALV致肿瘤的机制

根据致肿瘤作用的快慢, ALV 分为以下两大类。

2.1 慢性致肿瘤ALV(slowly transforming ALV)

即使是先天感染或出壳后早期感染, 一般要经几个月的潜伏期才会有肿瘤发生。这是通过整合进宿主细胞染色体的 ALV 的前病毒 DNA 插入到细胞原癌基因上游后, 由于 ALV 前病毒 DNA 中的 LTR (long terminal repeat) 具有启动子和增强子活性, 激活了相关原癌基因产物的表达, 改变了细胞生长或分化活性使之转化为肿瘤细胞^[6]。在对鸡白血病分子生物学的早期研究中, 已通过检测出一些原癌基因, 如 *c-myc*、*c-erbB* 等与 ALV-LTR 的嵌合体分子, 证实了上述观点^[7]。近几年的分子生物学研究更是直接证明了插入的 ALV-LTR 确实使一些原癌基因, 如 *c-Myc*、*c-Myb*^[8] 或端粒酶反转录酶 (TERT) 基因^[9] 超表达。而在对 ALV 致肿瘤有抵抗力的品系鸡, 这种插入的 LTR 激活的 *c-Myc* 的超表达则被减弱了^[10]。但到目前为止, 仅对有限的几个 ALV 肿瘤相关基因产物活性进行了研究, 且由于欧美国家鸡场中近年来 ALV 感染已很少了, 有限的研究资源使他们的研究范围和深度都受到了很大限制。

2.2 急性致肿瘤ALV(acutely transforming ALV)

这类病毒接种鸡后只要几天或几周就能诱发肿瘤, 如罗斯肉瘤病毒 (RSV)。Bishop 正是从 RSV 中发现了病毒带有肿瘤基因, 而且就来源于鸡基因组中的原癌基因 *c-myc*^[4]。在 RSV 基因组中鸡的原癌基因取代了 ALV 的整个 *pol* 基因及 *gag* 和 *env* 基

因的部分片段。这种病毒感染细胞后, 不论其前病毒 DNA 整合到细胞染色体基因组的哪个部位, 肿瘤相关基因产物都可能过量表达而诱发细胞转化为肿瘤细胞, 因此, 在感染鸡后很快诱发肿瘤。不过, 这类病毒都是复制缺陷性的, 需要有辅助性 ALV 同时感染一个细胞时才能复制。然而, 由于近 20 年来, 欧美国家鸡群中已基本净化了 ALV 感染, 急性肿瘤的病例更为少见, 因此, 近来对急性肿瘤性 ALV 研究也很少有更新的进展和报道。

3 国内外鸡群中ALV流行动态及演变趋势

多种鸟类可感染 ALV, 根据囊膜蛋白抗原性的不同, ALV 分为 A~J 共 10 个亚群。其中在鸡群中流行的 A、B、C、D 等 4 个亚群是 1980 年以前确定的, 那时在鸡群中诱发肿瘤的主要是 A、B 亚群 ALV。它们分别可诱发淋巴细胞瘤、纤维肉瘤、髓细胞瘤、成红细胞瘤、骨硬化、血管瘤等不同类型的肿瘤。通过对原种鸡群实施多年严格的净化, 国际跨国育种公司已在 20 世纪 80 年代末期将规模化养殖的肉用型和蛋用型鸡中的外源性 A、B、C、D 亚群 ALV 感染基本净化。但是, 在 1988 年又从英国的白羽肉用型鸡中发现并鉴定出新的 J 亚群 ALV, 主要引起髓细胞样细胞瘤^[11]。在几年内, 该病很快波及到美国和其他国家^[12-16], 而且 J 亚群 ALV 的致病性与传染性均高于其他亚群, 给全球白羽肉鸡业带来了极大的经济损失, 许多育种公司被迫倒闭。

在我国, ALV-J 不仅随着引进的白羽肉种鸡带进了我国白羽肉鸡群^[14-17], 而且还进一步蔓延至我国的蛋鸡^[18-20] 和中国地方鸡种^[21-23]。ALV-J 不仅给我国规模养鸡业带来很大损失, 也威胁到我国历史上形成的地方鸡品种的种质基因库。特别是在 2008 年以来, ALV-J 诱发的肿瘤/血管瘤在蛋鸡中形成了流行趋势^[24-25]。显然, ALV-J 也已成为我国各种类型鸡群中的最主要也是危害最严重的 ALV 的流行亚群。这引起了国内外禽病界的高度关注, 仅近两年已在禽病相关的国内刊物和 SCI 刊物上有多篇论文和报道发表^[26-31]。虽然血管瘤也是不同亚群 ALV 感染后发病鸡的表现之一, 但在过去, 不论是国外经典白血病的报道, 还是 20 世纪 90 年代后国内外在白羽肉鸡中报道的 J 亚群白血病, 在发生肿瘤的病鸡中血管瘤的比例都不高, 即不是主要病变。然而, 近几年在我国蛋用型鸡和部分黄羽肉鸡中发生的 ALV-J 感染群, 血管瘤, 特别是皮肤血管瘤的

发生率很高，严重的鸡群达到 10%~15%。这与病毒变异相关，还是与鸡的品种相关，或是两者的相互作用，目前仍然不清楚。

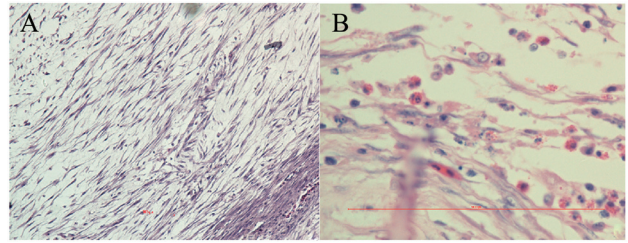
4 我国出现了J亚群相关的急性致肿瘤性ALV

ALV-J 是 1988 年以后才发现的 ALV 的一个新的亚群^[32]。但是，当以最早鉴定的 HPRS-103 株进行鸡的人工感染时，它要经过五六个月以上的潜伏期后才诱发髓细胞瘤。可是，将诱发的肿瘤的无细胞浸出液接种鸡的骨髓细胞培养物时，分离到一株急性转化性病毒株 966，它能在几天或几周内就能在细胞培养中转化骨髓细胞^[33]。对该病毒的基因组分析发现，病毒 966 株的基因组与 RSV 类似，*myc* 基因片段取代了整个 *pol* 基因及 *gag* 和 *env* 基因的部分片段^[34]。然而，十年过去了，一直没有看到该株病毒对鸡的急性致肿瘤性的后续报道。很可能在体外细胞培养中可呈现急性细胞转化作用的病毒，虽然带有肿瘤基因，但也不一定就能感染鸡并在体内诱发肿瘤。

然而，近两年来，在我国鸡群中出现了急性致肿瘤性 ALV-J 引发急性纤维肉瘤的自然病例。随着近几年 ALV-J 在我国的大流行，我国出现了 ALV-J 相关的急性纤维肿瘤的局部流行。从 2009 年以来，本课题组分别在山东不同地区的 2 个蛋鸡群和 3 个“817”肉杂鸡群中发现了急性肉瘤(图 1 和图 2)，发病和死亡率可达到 1%~5%。病毒分离鉴定证明主要与 ALV-J 相关^[35-36]。用纤维肉瘤组织的无细胞浸出液接种不同品系的 1 日龄鸡，均



图1 给1日龄鸡颈部皮下注射自然发病的肉瘤研磨液的滤过液后 14 d 形成的核桃大小的急性纤维肉瘤结节的剖检变化^[35]



HE染色，100 × (A)和1000 × (B)

图2 肿瘤病理组织切片显微镜观察，显示纤维细胞肉瘤^[35]

能在 10~14 d 内诱发同样类型的急性纤维肉瘤。以肉瘤组织的 DNA 为模板，分别用来自不同肿瘤基因的序列及 ALV-LTR 序列组成不同配对的引物，已分别扩增到 ALV-LTR-*gag* 片段与 *fps* 肿瘤基因 5' 端片段及 *fps* 肿瘤基因 3' 末端与 *env* 基因 5' 端片段的嵌合体分子及 *fps* 肿瘤基因的全基因。初步研究已证明，至少这个急性致肿瘤 ALV 的整个 *pol* 基因及 *gag* 和 *env* 基因部分片段被 *fps* 肿瘤基因替代，其辅助病毒是 ALV-J。

5 我国在ALV的进一步研究中应该有所作为

5.1 ALV诱发的急性肉瘤的深入研究

随着 ALV-J 在我国流行而新出现的这种急性纤维肉瘤，一方面构成了我国养鸡业和禽病界的又一个挑战，另一方面也为进一步研究急性致肿瘤 ALV 及其致肿瘤作用的分子生物学机制提供了难得的资源。由于急性致肿瘤 ALV 已在我国鸡群中局部流行，我们必须为预防这类病毒发生和蔓延的防控措施制定尽快提供必要的科学依据。如，这类急性致肿瘤病毒带有的肿瘤基因是什么；这些肿瘤基因产物有什么生物学活性，又是如何使细胞转化为肿瘤细胞的；这类急性致肿瘤病毒能在鸡群中自然形成并有限流行的机制是什么等。这些研究同样也能对深入研究人类病毒致肿瘤作用提供很有价值的实验模型。

5.2 ALV在我国鸡群中的流行和变异规律

ALV 与 HIV 同为易发生变异的反转录病毒，在感染后往往只诱发不完全的抗体或细胞免疫反应，因而它们都能在感染后的鸡或人体内长期存在。因此，这两个病毒都可能在机体内不完全免疫环境下更易在免疫选择压的作用下发生变异和演化。鉴于 ALV 易于在鸡中做动物试验，其结果和结论可作为 HIV 研究的借鉴。最近，我们从我国本地鸡品

种中分离到一株 ALV, 根据其 *gp85* 基因序列, 可能应属于一个新的亚群。鉴于我国地方品种鸡的遗传多样性, 还有些地方品种鸡还处于半封闭状态, 而且我国鸡群从未对 ALV 作过净化, 因此, 存在更多的 ALV 亚群的可能性是很大的。

5.3 诊断和防控ALV的新技术和新方法

经过几十年的努力, 西方发达国家对规模化养殖的鸡群中的 ALV 感染已基本实现净化, 鸡白血病很少发生。由于相关的研究经费显著减少, 相关的研究机构和人员也大大减少了。但在我国, 鸡群中 ALV 感染及白血病仍将是一个长期的问题, 特别是我国特有的地方品种鸡和黄羽肉鸡。然而, 当前国际上用于原种鸡群对 ALV 净化的检测技术和方法仍然依靠经典的病毒学和免疫学手段, 不能有效地用于我国这么多品种的净化。为此, 我国的养鸡业还迫切要求研发更适合我国鸡群白血病控制和净化的新的诊断和检测方法, 特别是将现代分子生物学的新技术和新方法用于改进 ALV 的检测手段。

5.4 在病毒性肿瘤发病机制及防治研究中继续发挥动物模型作用

如前所述, ALV 研究曾在病毒诱发肿瘤、反转录酶及 cDNA 研究和肿瘤基因的研究方面发挥了很重要的动物模型作用^[2-4]。由于 ALV 在人工造病中很容易复制肿瘤, 特别是某些急性纤维肉瘤, 因此, 对它的研究可以在病毒性肿瘤发病机制及防治研究中继续发挥动物模型作用。例如, 在研究禽类的多种淋巴瘤时, miR-26a 的表达普遍都呈现下调。miR-26a 表达下调导致了其对靶分子 IL-2 抑制作用的减弱, 从而有助于转化细胞增殖能力的增强^[37]。另一方面, ALV 也可以用来研究对 HIV 有抗病毒作用的一些药物的抗反转录酶活性、抗整合酶活性、抗蛋白酶活性。因此, 既可在细胞水平上研究不同药物的抗病毒活性, 更能在鸡体内研究这些药物的抗病毒活性及病毒的耐药性变异。

[参 考 文 献]

- [1] 崔治中. 鸡为什么易发多种病毒性肿瘤[M]//10000个科学难题: 农业科学卷. 北京: 科学出版社, 2011: 1109-12
- [2] Weiss RA, Vogt PK. 100 years of Rous sarcoma virus. *J Exp Med*, 2011, 208(12): 2351-25
- [3] Temin HM. The DNA provirus hypothesis. The establishment and implication of RNA-directed DNA synthesis. Nobel Lecture, 1975
- [4] Bishop JM. Retrovirus and oncogenes II. Nobel Lecture, 1989
- [5] Fadly A, Nair P. Leukosis/Sarcoma group[M]// Saif YM. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press, 2008: 514-68
- [6] Payne LN. Retrovirus-induced disease in poultry. *Poult Sci*, 1998, 77: 1204-12
- [7] Fung YK T, Lewis WG, Crittenden LB, et al. Activation of the cellular oncogene c-erbB by Itr insertion: Molecular basis for induction of erythroblastosis by avian leukosis virus. *Cell*, 1983, 33: 357-68
- [8] Polony TS, Bowers SJ, Neiman PE, et al. Silent point mutation in an avian retrovirus RNA processing element promotes c-myc-associated short-latency lymphomas. *J Virol*, 2003, 77: 9378-87
- [9] Yang F, Xian RR, Li Y, et al. Telomerase reverse transcriptase expression elevated by avian leukosis virus integration in B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(48): 18952-7
- [10] Parghi SS, Brandvold KA, Bowers SJ, et al. Reduced Myc overexpression and normal B-cell differentiation mediate resistance to avian leukosis virus lymphomagenesis. *Oncogene*, 2004, (23): 4413-21
- [11] Payne LN, Gillespie AM, Howes K. Myeloid leukaemogenicity and transmission of the HPRS-103 strain of avian leukosis virus. *Leukemia*, 1992, 6: 1167-76
- [12] Fadly AM, Smith E1. Isolation and some characteristics of a subgroup J-like avian leukosis virus associated with myeloid leukosis in meat-type chickens in the United States. *Avian Dis*, 1999, 43: 391-400
- [13] Silva RE, Fadly AM, Hunt HD. Hypervariability in the envelope genes of subgroup J avian leukosis viruses obtained from different farms in the United States. *Virology*, 2000, 272: 106-11
- [14] 杜岩, 崔治中, 秦爱建, 等. 从市场商品肉鸡中检出J亚群禽白血病病毒. *中国家禽学报*, 1999, 3(1): 1-4
- [15] 杜岩, 崔治中, 秦爱建, 等. 鸡的J亚群白血病病毒的分离及部分序列比较. *病毒学报*, 2000, 16(4): 341-6
- [16] Cui ZZ, Du Y, Zhang Z, et al. Comparison of Chinese field strains of avian leukosis subgroup J viruses with prototype strain HPRS-103 and United States strains. *Avian Dis*, 2003, 47: 1321-30
- [17] 张志, 崔治中, 赵宏坤. 我国2000~2001年J亚群禽白血病病毒分离株*gp85*基因的序列比较. *中国兽医学报*, 2003, 23(1): 25-27
- [18] Xu B, Dong W, Yu C, et al. Occurrence of avian leukosis virus subgroup J in commercial layer flocks in China. *Avian Pathol*, 2004, 33(1): 7-13
- [19] 徐滨蕊. 用ALV-Jgp85单克隆抗体证明蛋鸡存在J亚群禽白血病. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(3): 269-71
- [20] 王辉, 崔治中. 蛋鸡J亚群白血病病毒的分离鉴定与序列分析. *病毒学报*, 2008, 24: 369-75
- [21] 成子强, 张利, 刘思当, 等. 中国麻鸡中发现禽J亚群白血病. *微生物学报*, 2005, 45: 584-7
- [22] Sun SH, Cui ZZ. Epidemiological and pathological studies of subgroup J avian leukosis virus infectious in chinese local "yellow" chicken. *Avian Pathol*, 2007, 36: 221-6
- [23] Cui ZZ, Sun SH, Meng SS. Simultaneous endemic infections with subgroup J avian leukosis virus and reticuloendotheliosis virus in commercial and local breeds

- of chickens. *Avian Pathol*, 2009, 38: 443-8
- [24] 孙淑红, 柴家前, 王波, 等. 表现腺胃炎的蛋用型鸡J亚群白血病病毒的分离与鉴定. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(2): 251-4
- [25] 代阳, 杨其峰, 王波, 等. 不同地区海兰褐蛋鸡中J亚群白血病病毒株 $gp85$ 基因的分子演化分析. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(5): 635-8
- [26] Liu C, Zheng S, Wang Y, et al. Detection and molecular characterization of recombinant avian leukosis viruses in commercial egg-type chickens in China. *Avian Pathol*, 2011, 40(3): 269-75
- [27] Zhang H, Lai H, Qia Y, et al. An ALV-J isolate is responsible for spontaneous haemangiomas in layer chickens in China. *Avian Pathol*, 2010, 40(3): 261-7
- [28] Lai H, Zhang H, Ning Z, et al. Isolation and characterization of emerging subgroup J avian leukosis virus associated with hemangioma in egg-type chickens. *Vet Microbiol*, 2011, 151(3-4): 275-83
- [29] Shi M, Tian M, Liu C, et al. Sequence analysis for the complete proviral genome of subgroup J Avian Leukosis virus associated with hemangioma: a special 11 bp deletion was observed in U3 region of 3'UTR. *Virology*, 2011, 8: 158
- [30] Gao Y, Qin L, Wei P, et al. Avian leukosis virus subgroup J in layer chickens, China. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16: 1637-8
- [31] Sun H, Qin M, Xiao Y, et al. Haemangiomas, leiomyosarcoma and myeloma caused by subgroup J avian leukosis virus in a commercial layer flock. *Acta Vet Hung*, 2010, 58(4): 441-51
- [32] Payne LN, Brown SR, Bumstead N, et al. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens. *J Gen Virol*, 1991, 72 (PI 4): 801-7
- [33] Payne LN, Gillespie AM, Howes K. Recovery of acutely transforming viruses from myeloid leukosis induced by the HPRS-103 strain of avian leukosis virus. *Avian Dis*, 1993, 37: 438-50
- [34] Chesters PM, Howes K, McKay JC, et al. Acutely transforming Avian leukosis virus subgroup J strain 966: defective genome encodes a 72-kilodalton Gag-Myc fusion protein. *J Virol*, 2001, 75: 4219-25
- [35] 李传龙, 张恒, 赵鹏, 等. ALV-J相关的鸡急性纤维肉瘤发病模型的建立. *中国农业科学*, 2012, 45(3): 548-55
- [36] 刘绍琼, 王波, 张振杰, 等. 817鸡肉瘤组织分离出A、J亚型禽白血病病毒. *畜牧兽医学报*, 2011, 42(3): 396-401
- [37] Xu H, Yao Y, Smith LP, et al. Micro-RNA-26a-mediated regulation of interleukin-2 expression in transformed avian lymphocyte lines. *Cancer Cell Int*, 2010, 10: 15