

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.05.12

鸡传染性法氏囊病新型疫苗的研究进展

杨宵玥, 陈玲, 宋亚芬, 蒋桃珍*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2018-02-27 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 05-0079-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 鸡传染性法氏囊病(IBD)是由鸡传染性法氏囊病病毒(IBDV)引起的雏鸡的一种高度接触性传染病,自 1962 年报道以来,世界上主要养禽国家和地区均有流行,给养禽业带来严重经济损失。目前,IBD 防控的主要方法是采用疫苗接种,使易感雏鸡获得主动或被动免疫保护,因此疫苗的质量对临床上 IBD 的防控起着至关重要的作用。虽然各国均有较好的商品化疫苗,但随着 IBDV 毒株的不断变异,商品化疫苗的抗原性与流行毒株不能完全匹配,临床上免疫失败时有发生,因此迫切需要研发与临床流行毒株相匹配的新型疫苗用于 IBD 的防控。对近期 IBD 的基因缺失苗、亚单位疫苗、DNA 疫苗以及活载体疫苗等新型疫苗的研究进展进行概述,以此为 IBD 新型疫苗的研究提供参考。

[关键词] 鸡传染性法氏囊病;鸡传染性法氏囊病病毒;疫苗

Advances in New Vaccine Researches of the Infectious Bursal Disease

YANG Xiao-yue, CHEN Lin, SONG Ya-fen, JIANG Tao-zhen*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: JIANG Tao-zhen, E-mail: taozhen_jiang@163.com

Abstract: Infectious bursal disease (IBD) is a highly contagious infectious disease of chickens caused by infectious bursal disease virus (IBDV). The disease, first described by Cosgrove in 1962, has been popular and caused serious economic losses in poultry regions and countries. Vaccination is currently considered as a viable option to control IBD, which can stimulate active or passive immune protection for the susceptible chickens. Thus, the quality of the vaccines is critical in clinic prevention. Because of the mutation of the IBDV strains, the poor antigenic match between the commercialized vaccine and the epidemic strains often leads to immune failure. Therefore, it is urgent to develop effective vaccines against IBD. In order to provide a reference for the development of new vaccines, this review summarizes the recent advances of IBD vaccines such as IBD gene deletion vaccine, live virus vector vaccine and so on.

Key words: infectious bursal disease; infectious bursal disease virus; vaccines

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0500704)

作者简介: 杨宵玥, 硕士研究生, 从事禽病毒分子生物学研究。

通讯作者: 蒋桃珍。E-mail: taozhen_jiang@163.com

鸡传染性法氏囊病 (IBD) 是由传染性法氏囊病病毒 (IBDV) 引起的急性、高度接触性传染病, 主要感染 3~6 周龄雏鸡^[1]。法氏囊为 IBDV 的靶器官, 法氏囊内未成熟的 B 淋巴细胞为病毒增殖的靶细胞, 病毒感染后可导致细胞和细胞核碎裂、细胞坏死、凋亡等, 造成机体 B 淋巴细胞大量减少, 破坏机体正常免疫应答能力^[2]。因此, 易感鸡群感染后除导致发病死亡外, 还可引起免疫抑制, 增加机体对其他病原的易感性, 引起继发感染^[3]。

疫苗接种是养禽业预防 IBD 流行的最主要措施。目前应用最为广泛的疫苗主要是传统弱毒活疫苗和灭活疫苗^[4]。利用活疫苗进行接种可诱导鸡群在较短时间内产生主动免疫, 但由于其易受母源抗体 (MDA) 的干扰, 往往在不同鸡群或同一鸡群不同个体间产生不同的免疫效果, 有时还可导致免疫失败。因此, 为了达到更好的免疫效果, 临床上往往会使用一些毒力偏强的商品化疫苗, 但使用后会引起来法氏囊组织损伤, 导致免疫抑制, 同时也带来毒力返强和散毒等生物安全风险^[5]。此外, 由于大多数商品化的 IBDV 活疫苗都是基于经典毒株研制的, 对临床流行的 IBDV 超强毒株或变异株感染的鸡不能产生完全保护。与弱毒疫苗相比, 灭活疫苗更加安全, 但免疫效果低于活疫苗, 并且需要反复多次加强免疫, 导致免疫成本增加, 因此, 迫切需要研究与流行毒株完全匹配的新型疫苗。许多研究已经表明, IBDV 抗原性主要取决于 A 节段上 VP2 基因, 其编码的 VP2 蛋白是唯一能诱导机体产生中和抗体的蛋白^[6]。因此, 以病毒 VP2 基因为靶目标, 结合已有的分子生物学技术和 DNA 重组技术开展新型疫苗研究已成为 IBD 疫苗研究的主要发展方向。

1 基因缺失/替换活疫苗

近年来, 由于对 IBDV 基因组 A、B 节段的研究不断深入, 其细胞嗜性、毒力、复制等重要性状分子基础已获得较为明确的结论^[7-9]。VP2 高变区内 222A、256I、279D、284A、294I 和 299S 等氨基酸位点与 IBDV 毒力有关。利用反向遗传技术, 对毒株进行基因突变或缺失, 可以获得能与田间流行毒株抗原相匹配、又不会对法氏囊导致病理损伤的

IBDV 弱毒疫苗。高立等^[10]将流行毒株 HLJ0504 的 VP2 基因 253 和 284 位氨基酸进行突变后, 将其替换 Gt 弱毒株 VP2 相应片段, 利用 RNA 聚合酶 II 拯救出嵌合病毒 rGtVP2 株, 用 rGtVP2 免疫 SPF 鸡后, 其产生的抗体滴度明显高于亲本株 Gt 株。祁小乐等^[11]通过对 vvIBDV VP2 基因的主要毒力位点进行三点突变, 使得病毒毒力致弱, 不仅致死率降为零, 而且感染鸡的法氏囊没有出现明显萎缩和损伤, 与强毒株相比, 拯救毒可适应 CEF, 对鸡无致病性, 且能够获得良好的免疫效果。秦立廷等^[12]以中等毒力毒株为骨架构建的 VP5 基因缺失病毒, 对鸡的致病力显著降低, 免疫后能刺激机体产生较高滴度的抗体和较好的免疫保护。因此, 通过基因突变或替换, 可以在较短时间内将田间流行毒株致弱成可以商品化使用的疫苗株, 确保疫苗免疫保护性抗原与田间流行毒株一致, 提高疫苗临床应用后的免疫保护效果。尽管该类疫苗似乎有更好的临床应用前景, 但至目前为止, 还没有商品化的疫苗上市。

2 亚单位疫苗

VP2 蛋白是 IBDV 的主要保护性抗原, 具有中和活性。由于其具有良好的免疫原性和稳定性, 是 IBD 亚单位疫苗研究的重点。构建表达 VP2 亚单位蛋白的系统主要有大肠杆菌表达系统^[13]、酵母系统^[14]和杆状病毒表达系统^[15]。在原核表达系统中, 可利用含特殊密码子的宿主菌 BL21 PLUS 或去除 VP2 基因 N 端亲水区, 提高表达蛋白量^[16], 因此采用大肠杆菌表达系统生产亚单位疫苗, 相比全病毒灭活疫苗而言, 生产成本低且无潜在的生物安全风险。目前国内已有多个商品化疫苗上市, 但国外还没有商品化的 VP2 亚单位疫苗。由于 VP2 的抗原中和表位具有构象依赖性, 大肠杆菌表达系统无法对 VP2 蛋白进行加工、修饰, 利用该系统表达的 VP2 蛋白免疫鸡群后诱导产生的中和抗体水平明显低于全病毒灭活疫苗。由于真核表达系统可对表达的重组蛋白正确折叠, 通过真核生物系统表达的 VP2 蛋白可能比原核系统的表达产物有更好的免疫原性, Liu 等^[17]利用杆状病毒表达系统, 将 VP2 蛋白与能够增强免疫的鸡 IL-2 进行融合表

达,结果表明,融合蛋白比单独使用 VP2 提供了更好的保护,提高了亚单位疫苗的免疫原性,但目前为止,还没有该类商品化的 VP2 亚单位疫苗。此外,也有尝试利用植物表达系统研制适用于口服的亚单位疫苗,如吴建祥等^[18]用 IBDV 的 VP2 基因和拟南芥成功构建转基因植物表达系统,为亚单位疫苗研究带来新思路。

3 免疫复合物疫苗

免疫学的研究表明,在对某种外来抗原的免疫应答过程中,最初产生的特异性抗体与该抗原结合后,可形成一种免疫复合物。由于复合物中抗体分子的 Fc 片段与抗原递呈细胞的 Fc 受体有很高的亲和性,使得与抗体结合的抗原更易有效地与递呈细胞结合。一旦抗原-抗体复合物被递呈细胞吞噬和内质化,即可激活并刺激 B 淋巴细胞成为抗体分泌细胞,从而引起强烈的体液免疫反应。已有研究表明,在体外构成的免疫复合物对机体所刺激的体液免疫反应是自然抗原的 100 倍。将 IBDV 疫苗株与高免疫血清特异性结合制备的 IBDV 免疫复合物(Icx)疫苗是依据这一原理研制成功的商品化疫苗^[19],该复合物能延迟病毒在鸡体内的复制,当母源抗体降低到一定水平时,IBDV-Icx 中的病毒开始释放复制并产生免疫保护力^[20]。其主要优势在于不受母源抗体干扰,可用于胚内免疫,且免疫效果优于常规病毒活疫苗。章振华等^[21]用鸡传染性法氏囊病免疫复合物疫苗和活疫苗分别免疫 1 日龄 SPF 雏鸡,9 d 后发现,免疫复合物疫苗组鸡法氏囊正常,弱毒活疫苗组鸡法氏囊全部明显萎缩,免疫 21 d 和 28 d 后,疫苗免疫组均 100% 保护。另有研究发现,鸡胚接种 IBDV-Icx 疫苗后,在脾脏内发现更多的生发中心,大量的 IBDV 被局限在脾脏和粘液样的树突细胞内^[5],减少了病毒在体内其他组织中的复制,降低了疫苗免疫后对外排毒量,从而也降低了疫苗毒释放至环境中与野毒重组的可能,进一步减少了活疫苗使用后可能存在的生物安全风险。

4 DNA 疫苗

自从上个世纪 90 年代初研究发现,编码具有免疫原性蛋白的裸 DNA 进入宿主细胞后可以诱导

机体产生对特定病原体的免疫应答,DNA 疫苗就迅速成为研究热点,尤其是对于一些体外难以培养的病原体,研制 DNA 疫苗似乎比研究其他类型疫苗更有发展前景。国外已有商品化的 DNA 疫苗,如美国已批准了用于预防大马哈鱼传染性造血组织坏死病的 DNA 疫苗,中国农科院哈尔滨兽医研究所已研制成功高致病性禽流感(H5 亚型)DNA 疫苗^[22]。由于 DNA 疫苗不受母源抗体干扰,且稳定性好,甚至保藏运输可以不需要冷链等潜在优势^[23],目前已有许多关于鸡传染性法氏囊病 DNA 疫苗的研究报道。Satya 等^[24]利用真核表达载体 pVAX1 构建了含 VP2 基因的 pVAX-VP2 质粒,将该质粒经肌肉注射接种 2 周龄雏鸡,利用 RT-PCR 方法检测发现不同脏器内均能检测到质粒 DNA,且免疫鸡可获得高水平的抗 VP2 蛋白抗体,用 IBDV 强毒株攻毒可获得 75% 的免疫保护率。Hsieh 等^[23]将含有 VP2、VP3 和 VP4 基因的质粒 DNA 分别在 1 日龄、1 周龄和 2 周龄时经肌肉 3 次接种母源抗体阳性的肉鸡,免疫 3 周后攻毒,结果发现,接种剂量为 7.5 和 10 mg 的免疫组鸡可获得 95% 和 100% 保护率。但也有研究表明,DNA 疫苗免疫后,再采用灭活苗进行加强免疫才能获得较好的免疫保护作用^[25]。至今,用于预防 IBD 的 DNA 疫苗仍处于试验性阶段,由于其不受母源抗体干扰、生产过程中不需要操作活病毒,使用后不存在散毒风险等,仍然是疫苗研究的热点之一。

5 活病毒载体疫苗

活病毒载体是将目的基因插入病毒载体基因组复制非必需区,当重组病毒感染宿主时,外源基因随病毒载体共同在宿主体内复制、表达外源蛋白,激发宿主免疫应答反应^[26]。病毒载体可同时插入多个外源基因,构成多价疫苗,降低了制备和接种成本,而表达 VP2 蛋白的重组病毒活载体疫苗接种鸡后不会导致法氏囊损伤,从而避免了活疫苗免疫后可能导致的免疫抑制风险^[27]。活病毒载体疫苗的研究已近 30 年,多种病毒如禽痘病毒、禽腺病毒、新城疫病毒和火鸡疱疹病毒等均可作为疫苗载体,国外已有多种商品化的表达 IBDV-VP2 蛋白的载体疫苗上市。

5.1 禽痘病毒载体 禽痘病毒具有某些特征,如在细胞浆内复制、基因组大以及特征性的病毒酶和转录系统,使其可以正确表达外源基因,因此成为早期载体疫苗研究的主要病毒载体之一。目前在美国以痘病毒为载体的禽流感、新城疫、鸡传染性喉气管炎、支原体重组禽痘病毒活疫苗均已上市^[28],多年临床使用后也被证明是安全有效的^[5],但至今未见有表达 IBDV-VP2 禽痘病毒活载体疫苗成功的报道。Bayliss 等^[29]将 IBDV 52/70 株编码 VP2 的基因插入禽痘病毒(FPV)构建了重组病毒 fpIBD1,以融合蛋白形式表达 VP2,将构建的载体病毒活疫苗分别在 1 日龄和 14 日龄时免疫 SPF 鸡,28 日龄时用 52/70 或 CS89 强毒接种,免疫鸡仅可获得临床保护,但法氏囊仍有损伤。Tsukamoto 等^[30]构建了表达 VP2 基因的 rFPV 重组病毒,将该病毒免疫 SPF 鸡后 30 d 用 vvIBDV 攻毒,虽然可以提供临床保护,但法氏囊仍出现严重的肉眼病变,其组织病理学评分结果与攻毒对照相似,该结果也表明表达 VP2 基因的重组禽痘病毒不能够提供有效的免疫保护效果。因此,从 2000 年以后未见采用重组禽痘病毒作为载体研制 IBD 疫苗的报道。

5.2 禽腺病毒载体 腺病毒由于宿主广泛,其双链 DNA 可以有效表达插入的外源基因,且以其为载体构建的疫苗可以诱导机体产生良好的细胞和体液免疫反应^[31-32],不同血清型的禽腺病毒均可作为载体用于构建载体疫苗^[31]。Shepard 等^[33]首次将 IBDV 经典毒株 002-73 的 VP2 基因插入到血清 10 型禽腺病毒(FAV-10)的非编码区,构建了表达 VP2 基因的重组腺病毒,该病毒经静脉、腹腔、皮下和肌肉途径接种 SPF 鸡,免疫 21 d 后能诱导鸡产生针对 VP2 的抗体,用中等毒力的经典毒株 IBDV V877 攻击 4 d 后,法氏囊组织匀浆用 ELISA 方法检测不到病毒抗原。Francois 等^[34]用属于禽腺病毒 I 型的鸡胚致死孤儿病毒(CELO)作为载体,构建了表达 IBDV-VP2 基因的重组病毒 CELOa-VP2,通过口鼻途径接种 SPF 鸡后用 vvIBDV 攻击,仅产生非常低的保护效果,而通过皮下和皮内途径一次接种后攻毒,可产生 100% 的临床保护。尽管以禽腺病毒为载体构建的表达 IBDV-VP2 基因的重组疫

苗研究报道较少,但随着分子生物学技术的发展,禽腺病毒载体构建技术会逐步简单化,面对我国养殖业中腺病毒感染越来越严重的流行现状,研制 IBD 禽腺病毒载体活疫苗将会有较大的临床应用优势。

5.3 新城疫病毒载体 随着反向遗传技术的发展,许多 RNA 病毒已研制作为疫苗载体^[35],新城疫病毒是其中应用最为广泛的一种 RNA 病毒载体。虽然新城疫病毒(NDV)可感染多种哺乳动物和禽类,但由于其仅在细胞浆内复制,在动物体内不形成持续感染,且几乎不发生如基因插入、缺失或重组等基因变化现象,此外 NDV 能够诱导机体在局部和全身产生很强的体液免疫和细胞免疫作用,同时又具有一定的佐剂活性,所以它作为疫苗载体是非常安全有效的。许多以 NDV 为载体的人类疫苗和动物疫苗已被研制,如人的流感(rNDV/B1-HA)、SARS(NDV-VF/S)、埃博拉(NDV/GP)和人副流感(NDV-LS/HN, NDV-BC/HN)等,这些疫苗的免疫效果已在实验动物中得到证实^[36],也研制出用于牛羊、猪、狗和马的病原体的载体疫苗,如牛疱疹病毒-1 型(BHV-1)^[37]、裂谷热病毒(RVSV)^[38]、犬瘟热病毒(CDV)^[39]和狂犬病毒(RV)^[40]。

有多种以 NDV 为载体的禽用疫苗已研制成功,如禽流感、传染性喉气管炎、传染性支气管炎、鸡传染性法氏囊等^[41]。其中禽流感 NDV 活载体疫苗已在中国和墨西哥获得商品化应用^[42]。尽管以 NDV 为载体的活病毒载体疫苗研究较多,但关于 NDV 载体表达 IBDV-VP2 的活载体疫苗研究资料较少。2004 年,Huang 等^[43]首次将 IBDV GLS-5 株的 VP2 基因插入到 NDV Lasota 株基因组的 3 端,拯救出重组病毒 rLaSota/VP2,将重组病毒免疫 2 日龄的 SPF 鸡 3 周后用 IBDV GLS-5 和 NDTexas GB 株攻毒,结果表明 rLaSota/VP2 能对免疫鸡产生 90% 以上的免疫保护。2014 年,Jin 等^[44]构建了表达 IBDV-VP2 的 ND 嵌合病毒 rLaC30L-VP2,18 日龄胚内接种后可以对 vvIBDV 毒株提供 83.3% 的保护。2017 年,Sohini 等^[45]用 NDV F 株构建表达 IBDV-VP2 的重组病毒 rNDV F/VP2,免疫效力试验结果表明可以对 IBDV 强毒株提供 100% 保护,对 NDV

强毒株攻击可以提供 80% 保护。虽然上述实验室研究结果均表明采用 NDV 疫苗毒株构建的表达 IBDV-VP2 的重组病毒对 IBDV 强毒均可以提供良好保护,但由于 ND 活疫苗的免疫受到母源抗体干扰影响较大,且 ND 载体病毒活疫苗的免疫效果均低于其 ND 疫苗亲本毒株,因此 ND-IBDV-VP2 二联活疫苗的商品化还有待进一步研究和发展。

5.4 火鸡疱疹病毒/马立克载体 马立克病毒(MD)和火鸡疱疹病毒(HVT)均属于 α 疱疹病毒科,目前已在 MD/HVT 病毒基因组中发现了多个病毒体外复制非必需基因,其中包括 US1、US2、US6、US7、US10、UL23、UL40、UL43、UL44、UL45、UL46 等,可供多种外源基因插入。MD/HVT 接种鸡会引起持续性的感染,同时刺激体液和细胞免疫,接种该载体的单一疫苗能引起长期免疫^[46]。由于其良好的安全性,且疫苗不受母源抗体干扰,使得以 MD/HVT 为载体研制禽用疫苗成为近年来的研究热点,目前国外已有多个商品化疫苗上市。Raphael Darteil 等^[47]首次报道构建表达 IBDV-VP2 的 HVT 载体病毒,使用不同剂量($10^3 \sim 10^5$ PFU/羽)接种 1 日龄鸡 21 d 后,用 IBDV 强毒株攻击,105PFU/羽接种组可以提供 100% 保护,随后许多研究报道均表明表达 VP2 蛋白的 HVT 载体疫苗对 IBDV 可以提供良好的保护。Tsukamoto 等^[48]构建了含不同启动子的 rHVT-VP2 重组病毒,即 rHVT-cmvVP2 和 rHVT-pecVP2,对比结果发现,携带 Pec 启动子的重组病毒 VP2 蛋白表达量是 CMV 启动子的 4 倍,对免疫鸡产生 100% 保护,而含 CMV 启动子的重组病毒,免疫效果较差,这表明 HVT 重组载体病毒的启动子对疫苗的免疫效果和抗原表达量有重要影响。Bulbot 等^[49]使用表达 IBDV-VP2 的 HVT 载体疫苗经胚内接种或 1 日龄皮下接种高母源抗体鸡群,免疫鸡法氏囊没有任何损伤,且疫苗能够提供对不同 IBDV 强毒株的保护,该结果表明载体疫苗具有高度的安全性和有效性。Roh 等^[50]用商品化的 VAXXITEK HVT-IBD 疫苗对商品肉鸡进行的免疫接种试验表明,该载体疫苗可以对肉鸡提供良好的免疫保护,且对免疫鸡法氏囊不引起任何损伤,不诱导免疫抑制。从目前相关表达 IBDV-

VP2 载体疫苗的研究和临床应用效果看,表达 VP2 的 HVT 载体疫苗是免疫效果最好,且临床应用最广泛的载体疫苗。

6 展望

至今为止,预防和控制 IBD 最经济最有效的措施仍然是采用疫苗进行免疫接种。尽管有许多不同类别的商品化疫苗上市,对 IBD 的控制和减少养禽业的经济损失也起到了至关重要地作用,但目前可用于 IBD 预防的商业疫苗仍然存在着一定的局限性,因此新型疫苗研究仍是方兴未艾。可以展望,随着免疫学技术和分子生物技术的进一步发展,快速研制与流行毒株抗原结构相匹配的疫苗成为可能。当抗 IBDV 的母源抗体较高时,胚内接种的免疫复合物疫苗或重组疱疹病毒载体疫苗可用于规避母源抗体对疫苗的干扰问题。然而,不建议同时使用两种重组疱疹病毒疫苗,因为疱疹病毒感染细胞之间的相互干扰会导致对一种或两种目标病原体的免疫效果降低,在将来,也许 IBD-DNA 疫苗是解决这个问题的途径。如果能开发新型佐剂和改进疫苗接种途径并使之方便于群体免疫,可提高亚单位、亚病毒颗粒和模拟表位疫苗在养禽业的实际应用前景。总之,用于预防 IBD 的新型疫苗必须安全有效,生产成本低廉,且对规模化养禽业而言使用经济,只有这类疫苗才能成功获得市场。

参考文献:

- [1] David E. Diseases of poultry(13th Edition) [M]. A John Wiley & Sons, Inc, Publication, 2013: 219-230.
- [2] Ingraio F, Rauw F, Lambrecht B, *et al.* Infectious bursal disease: a complex host-pathogen interaction [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2013, 41(3): 429-438.
- [3] Mahgoub H A. An overview of infectious bursal disease [J]. *Archives of virology*, 2012, 157: 2047-2057.
- [4] Witter R L, Hunt H D. Poultry vaccines of the future [J]. *Poultry science*, 1994, 73(7): 1087-1093.
- [5] Muller H, Mundt E, Etteradossi N, *et al.* Current status of vaccines against infectious bursal disease [J]. *Avian Pathology*, 2012, 41(2): 133-139.
- [6] Pantin-Jackwood D J. Advances in vaccine research against economically important viral diseases of food animals: infectious bursal disease virus [J]. *Veterinary microbiology*, 2017, 206: 121-125.

- [7] Brandt M, Yao K, Liu M, *et al.* Molecular determinants of virulence, cell tropism, and pathogenic phenotype of infectious bursal disease virus[J]. *Journal of virology*, 2001, 75(24) : 11974-11982.
- [8] Boot H J, Agnes H M, Peeter B P. Generation of full length cDNA of the two genomic dsDNA segments of infectious bursal disease virus[J]. *Journal of Virological Methods*, 2000, 84: 49-58.
- [9] Boot H J, Ter Huurne A A, Hoekman A J, *et al.* Exchange of the C-terminal part of VP3 from very virulent infectious bursal disease virus results in an attenuated virus with a unique antigenic structure[J]. *Journal of virology*, 2002, 76(20) : 10346-10355.
- [10] Gao L, Qi X L, Li K, *et al.* Development of a tailored vaccine against challenge with very virulent infectious bursal disease virus of chickens using reverse genetics[J]. *Vaccine*, 2011, (29) : 5550-5557.
- [11] Qi X L, Zhang L, Chen Y, *et al.* Mutations of residues 249 and 256 in VP2 are involved in the replication and virulence of infectious bursal disease virus[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e70982.
- [12] 高立, 祁小乐, 秦立廷, 等. 鸡传染性法氏囊病毒超强毒株 HLJ-0504 VP5 基因缺失株感染性克隆的构建及鉴定[J]. *中国动物传染病学报*, 2010, 18(2) : 1-7.
- Gao L, Qi X L, Qin L T, *et al.* Cloning of very virulent infectious bursal disease virus HLJ0504 strain with VP5 gene deletion[J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Disease*, 2010, 18(2) : 1-7.
- [13] Rong J, Jiang T, Cheng T, *et al.* Large-scale manufacture and use of recombinant VP2 vaccine against infectious bursal disease in chickens[J]. *Vaccine*, 2007, 25: 7900-7908.
- [14] Fahey K J, Chapman A J, Macreadie I G, *et al.* A recombinant subunit vaccine that protects progeny chickens from infectious bursal disease[J]. *Avian Pathology*, 1991, 20: 447-460.
- [15] Vakharia V N, Snyder D B, He J, *et al.* Infectious bursal disease virus structural proteins expressed in a baculovirus recombinant confer protection in chickens[J]. *Journal of General Virology*, 1993, 74: 1201-1206.
- [16] Chen T H, Hu C C, Liao J T, *et al.* Induction of protective immunity in chickens immunized with plant-made chimeric Bamboo mosaic virus particles expressing very virulent infectious bursal disease virus antigen[J]. *Virus Research*, 2012, 166: 109-115.
- [17] Liu Y, Wei Y W, Wu X F, *et al.* Preparation of ChIL-2 and IBDV VP2 fusion protein by baculovirus expression system[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2005, 2(3) : 231-235.
- [18] Wu H, Singh N K, Locy R D, *et al.* Immunization of chickens with VP2 protein of infectious bursal disease virus expressed in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Avian Diseases*, 2004, 48: 663-668.
- [19] Whitfill C E, Haddad E E, Ricks C A, *et al.* Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) vaccine constructed by mixing bursal disease antibody with IBDV[J]. *Avian Diseases*, 1995, 39: 687-699.
- [20] 宋立芹, 蒋桃珍, 陈光华, 等. 鸡传染性法氏囊病免疫复合物疫苗的安全性和免疫效力试验[J]. *中国兽药杂志*, 2004, 38(7) : 9-11.
- Song L Q, Jiang T Z, Chen G H, *et al.* Safety and immune efficacy tests of the complex vaccine for infectious bursa disease[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2004, 38(7) : 9-11.
- [21] 章振华, 李林, 景小冬, 等. 鸡传染性法氏囊病免疫复合物疫苗对 SPF 雏鸡的免疫效果[J]. *动物医学进展*, 2015, 36(10) : 39-43.
- Zhang Z H, Li L, Jing X D, *et al.* Study on the immunity effect of immune complex vaccine for infectious bursal disease on one-day old low maternal antibody chicken[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 42(9) : 2493-2498.
- [22] Jackwood M J, Kapczynski D R, DeJesus E, *et al.* Efficacy of a recombinant turkey herpesvirus H5 vaccine against challenge with H5N1 clades 1.1.2 and 2.3.2.1 highly pathogenic avian influenza viruses in domestic ducks (*Anas platyrhynchos domesticus*) [J]. *Avian Diseases*, 2016, 60: 22-32.
- [23] Hsieh M K, Wu C C, Lin T L. DNA-mediated vaccination conferring protection against infectious bursal disease in broiler chickens in the presence of maternal antibody[J]. *Vaccine*, 2010, 28: 3936-3943.
- [24] Satya N P, Prabhu R P, Jayaprakasam M, *et al.* DNA vaccination with VP2 gene fragment confers protection against infectious bursal disease virus in chickens [J]. *Veterinary microbiology*, 2014, 171: 13-22.
- [25] Liz H, Fred D, Pete K. DNA vaccines for poultry: the jump from theory to practice[J]. *Expert Review of Vaccines*, 2005, 4(1) : 51-62.
- [26] Jackwood M W. Current and future recombinant viral vaccines for poultry[J]. *Advances in Veterinary Medicine*, 1999, 41: 517-522.
- [27] Sheppard M. Viral vectors for veterinary vaccines[J]. *Advances in Veterinary Medicine*, 1999, 41: 145-161.
- [28] Tripathy D N. The impact of vaccines and the future of genetically modified poxvirus vaccines for poultry [J]. *Animal Health Research Reviews*, 2004, 5(2) : 263-266.
- [29] Bayliss C D, Peters R W, Cook J K, *et al.* A recombinant fowlpox virus that expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus[J]. *Archives of Virology*, 1991, 120(3-4) : 193-205.
- [30] Tsukamoto K, Takanori S, Shuji S, *et al.* Dual-viral vector ap-

- proach induced strong and long-lasting protective immunity against very virulent infectious bursal disease virus[J]. *Virology*, 2000, 269: 257-267.
- [31] Vemula S V, Mittal S K. Production of adenovirus vectors and their use as a delivery system for influenza vaccines[C]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2010, 10(10): 1469-1487.
- [32] Bangari D S, Mittal S K. Development of nonhuman adenoviruses as vaccine vectors[J]. *Vaccine*, 2006, 24(7): 849-862.
- [33] Sheppard M, Werner W, Tsatas E, *et al.* Fowladenovirus recombinant expressing VP2 of infectious bursal disease virus induces protective immunity against bursal disease[J]. *Archives of Virology*, 1998: 143.
- [34] Achille F, Christophe C, Bernard D, *et al.* Avian adenovirus CE-LO recombinants expressing VP2 of infectious bursal disease virus induce protection against bursal disease in chickens[J]. *Vaccine*, 2004, 22(17-18): 2351-2360.
- [35] Stobart C C, Moore M L. RNA virus reverse genetics and vaccine design[J]. *Viruses*, 2014, 6: 2531-2550.
- [36] Kim S H, Samal S K. Newcastle disease virus as a vaccine vector for development of human and veterinary vaccines[J]. *Viruses*, 2016, 8: 183.
- [37] Khattar S K, Collins P L, Samal S K. Immunization of cattle with recombinant Newcastle disease virus expressing bovine herpesvirus -1 (BHV-1) glycoprotein D induces mucosal and serum antibody responses and provides partial protection against BHV-1[J]. *Vaccine*, 2010, 28: 3159-3170.
- [38] Kortekaas J, Dekker A, de Boer S M, *et al.* Intramuscular inoculation of calves with an experimental Newcastle disease virus-based vector vaccine elicits neutralizing antibodies against Rift Valley fever virus[J]. *Vaccine*, 2010, 28: 2271-2276.
- [39] Ge J, Wang X, Tian M, *et al.* Recombinant Newcastle disease viral vector expressing hemagglutinin or fusion of canine distemper virus is safe and immunogenic in minks. *Vaccine*, 2015, 33: 2457-2462.
- [40] Ge J, Wang X, Tao L, *et al.* Newcastle disease virus-vectored rabies vaccine is safe, highly immunogenic, and provides long-lasting protection in dogs and cats[V]. *Journal of virology*, 2011, 85: 8241-8252.
- [41] Choi K S. Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines[J]. *Clinical and experimental vaccine research*, 2017, 6(2): 72-82.
- [42] Suarez D L, Pantin-Jackwood M J. Recombinant viral-vectored vaccines for the control of avian influenza in poultry[J/OL]. *Veterinary microbiology*, 2016, 24(11).
- [43] Huang Z, Elankumaran S, Abdul S A. Recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus (IBDV) protects against NDV and IBDV[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78: 10054-10063.
- [44] Jin Y G, Wang X J, Tian M J, *et al.* Novel in-ovo chimeric recombinant Newcastle disease vaccine protects against both Newcastle disease and infectious bursal disease[J]. *Vaccine*, 2014, 32(13): 1514-1521.
- [45] Dey S, Chellappa M M, Pathak D C, *et al.* Newcastle disease virus vectored bivalent vaccine against virulent infectious bursal disease and Newcastle disease of chickens[J]. *Vaccine (Basel)*, 2017, 5(4): 31.
- [46] Susanne M B, Christina F, André R, *et al.* Herpesviral vectors and their application in oncolytic therapy, vaccination and gene transfer[J]. *Virus Genes*, 2017, 53(5): 741-748.
- [47] Darteil R, Bublot M, Laplace E, *et al.* Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens[J]. *Virology*, 1995, 211(2): 481-490.
- [48] Tsukamoto, K. Protection of chickens against very virulent infectious bursal disease virus and Marek's disease virus with a recombinant MDV expressing IBDV VP2[J]. *Virology*, 1999, 257: 352-362.
- [49] Bublot M, Pritchard N, Le Gros F-X, *et al.* Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high-titred maternally derived antibody[J]. *Journal of Comparative pathology*, 2007, 137(Suppl1): 81-84.
- [50] Roh J H, Kang M, Wei B, *et al.* Efficacy of HVT-IBD vector vaccine compared to attenuated live vaccine using in-ovo vaccination against a Korean very virulent IBDV in commercial broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2016, 95(5): 1020-1024.

(编辑:陈希)