

出國報告（出國類別：移地研究）

# 分析比較台灣及福建之家禽及番鴨 里奧病毒之致病性及病毒蛋白之抗 原性差異

服務機關：國立中興大學 分子生物學研究所

姓名職稱：劉宏仁 教授兼所長

派赴國家：中國

出國期間：103 年 2 月 16 日 至 103 年 2 月 23 日

報告日期：103 年 3 月 20 日

## 摘要

前往中國大陸福建農林大學動物科技學院進行移地研究及學術交流，了解大陸番鴨里奧病毒致病性改變的原因，探討解決臨床番鴨里奧病毒感染之防治策略，作為台灣防疫之參考。比較分析家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之 S class 基因序列及其所轉譯之蛋白之生物功能。經分析比較證實，番鴨里奧病毒 S 組基因編碼蛋白不包含 P17 非結構蛋白。分析比較也證實家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之  $\sigma$ C 及 p10 蛋白之基因序列相似度低及他們之生物功能可能不同。因此未來可研究釐清番鴨里奧病毒  $\sigma$ C 及 p10 蛋白是否與病毒致病性的增強有關，進一步了解番鴨里奧病毒感染雛番鴨的致病能力增強之機序。

## 目次

目的-----	4
過程-----	6
心得與建議-----	8
附錄-----	10

## 目的

番鴨是臺灣肉鴨養殖的主要品種，臺灣番鴨種鴨場約 20 個，規模化番鴨飼養場約有 200 個以上，臺灣每年消費番鴨 500 萬隻左右。番鴨養殖為海峽兩岸傳統的家禽產業，在農村經濟中歷來佔有重要地位。番鴨，學名瘤頭鴨，福建稱全番、正番，臺灣稱為生番鴨、無聲天鵝，是閩台水禽養殖中最主要的特色品種。福建省是番鴨養殖發展最快的省份，每年向大陸各地的供苗量可達 1 億隻以上，占大陸全國 50%，而福建省年飼養量也近億隻。番鴨也是臺灣肉鴨養殖的主要品種。番鴨里奧病毒（Muscovy duck reovirus, DRV）感染（俗稱肝白點病”或“花肝病”）是近幾年在福建省等番鴨飼養區出現的一種新的番鴨疫病。臨床該病主要見於番鴨，4~45 日齡番鴨易感染番鴨里奧病毒，發病率 20%~90%，死亡率差異很大，一般 10%~30%，混合感染時高達 90% 以上，耐過之番鴨，其生長發育遲緩、成為僵鴨，嚴重危害到番鴨養殖的健康發展，僅福建省莆田市 2000 年因該病死亡番鴨即達 2000 萬隻以上，番鴨養殖業受到沉重打擊。而家禽里奧病毒(avian reovirus, ARV)則是造成雞隻的病毒性關節炎、營養吸收不良症及呼吸道之疾病。由於雞隻跛腳，使得行動不便，進食能力降低及換肉率下降，導致雞隻的淘汰，造成嚴重的經濟損失。本病毒自然傳播方式主要是以水平傳播為主，經口、糞便及接觸傳染。另外也可經由垂直傳播，如介卵傳染。在臨床症狀方面，感染家禽里奧病毒的雞隻會體重減輕、羽毛粗糙、關節腫大及兩腿無力蹲坐在地上等症狀。剖

檢時可見肌腱斷裂出血、腺胃腫大、肌胃萎縮及胰臟充血發炎或萎縮，另外還可見到心囊炎、心包膜炎、心肌炎及肝炎等病變，造成養雞業者的經濟損失。

本次前往中國大陸福建農林大學動物科技學院進行移地研究及學術交流，深入探討番鴨里奧病毒致病性改變的原因，探討解決臨床番鴨里奧病毒感染之防治策略。同時亦分析及比較大陸家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之 S class 基因序列及其所轉譯之蛋白之生物功能之差異性。同時亦將取得家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒病毒株重要基因之 cDNA clone，進一步分析及探討臺灣及福建省家禽及番鴨里奧病毒之致病性及病毒蛋白之抗原性之差異，作為台灣防治家禽及番鴨里奧病毒之參考。

## 過程

### 1.行程表、研究經過及研究主題

日期	行程
2月16日	於台中機場出發抵達大陸福建福州（中國大陸福建農林大學動物科技學院王全溪及吳異健副教授接機）。
2月17日	參訪中國大陸福建農林大學動物科技學院之研究設備及瞭解大陸家禽發生家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒感染之情形。
2月18日	1. 介紹中興大學及家禽里奧病毒研究之專題報告。 2. 與動物科技學院之師生進行研究成果及心得之學術交流。
2月19日	參訪福建省莆田市之番鴨飼養場，了解番鴨感染里奧病毒後引起肝白點病或花肝病之疫情及防治之情形。
2月20日	於中國大陸福建農林大學動物科技學院實驗室分析及比較福建省家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之 S1 class 基因序列。
2月21日	於中國大陸福建農林大學動物科技學院實驗室分析及比較福建省家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒 $\sigma C$ 及 p10 蛋白之基因序列及蛋白功能之異同。
2月22日	於中國大陸福建農林大學動物科技學院實驗室分析及比較福建省家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之 $\sigma C$ 及 p10 蛋白之生物功能之異同。並取得大陸番鴨里奧病毒之 $\sigma C$ 及 p10 基因，作為

	後續返國後研究之材料。
2月23日	返程，抵達台中機場。

## 2. 研究性質介紹、研究成果或檢討事項：

家禽里奧病毒 (Avian reovirus, ARV) 是里奧病毒科 (*Reoviridae*) 正里奧病毒屬 (*Orthorivirus*) 禽正里奧病毒 (*Avian Orthorivirus*) 成員，病毒基因組為線性雙股 RNA(dsRNA)，由分節段的 10 個基因片段 (大節段 L1、L2、L3，中節段 M1、M2、M3，小節段 S1、S2、S3、S4) 組成；病毒基因組編碼的蛋白： $\lambda$  蛋白( $\lambda A$ 、 $\lambda B$  和  $\lambda C$ ) 由 L 基因編碼， $\mu$  蛋白( $\mu A$ 、 $\mu B$  和  $\mu NS$ ) 由 M 基因編碼， $\sigma$  蛋白( $\sigma A$ 、 $\sigma B$ 、 $\sigma NS$ 、 $\sigma C$  和 P10、P17)由 S 基因編碼，其中 P10、P17、 $\mu NS$  和  $\sigma NS$  為非結構蛋白，其餘是結構蛋白。

分析比較發現不同時期、不同致病力、不同禽種來源的里奧病毒分離株 (不同血清型或同型不同毒株) 的 10 個 dsRNA 片段存在多樣性。分析比較自感染大陸番鴨的里奧病毒 YB 株的 S 組 4 個基因的核苷酸序列與法國番鴨的里奧病毒 89026 和 89330 株的核苷酸序列之相似度分別為：89.6%、87.3%、93.8%、93.2%；然而與家禽里奧病毒 S1133 株 (台灣使用之疫苗株) 的同源性卻只有 30%、80%、20%、0%。而比較分析番鴨里奧病毒 DRV-YH、DRV-YJL 株與家禽里奧病毒 176、S1133 株 S1 基因序列則發現有較高相似度，證明番鴨里奧病毒 YB 株與 YH、YJL 株之間的 S 基因的核苷酸序列差異大，

且分屬不同的基因群，說明在大陸番鴨群體同時存在不同基因型的里奧病毒。同時也證實大陸禽類里奧病毒分佈的複雜性和多樣性。因此禽類里奧病毒更易於發生基因互換而導致基因變異。於 2002 年法國首先報導，番鴨里奧病毒 89026 和 89330 分離株在 S 組基因與雞源里奧病毒存在較大差異。我們分析比較也證實，由番鴨 89026 和 89330 分離株 S 組基因編碼蛋白中不包含 P17 非結構蛋白。而家禽里奧病毒 P17 蛋白則證實可調控細胞 cell cycle 及誘發細胞自噬，以利於病毒複製。福建農林大學動物科技學院王全溪老師以 LC-3 抗體進行免疫組織化學研究發現，番鴨里奧病毒感染的肝細胞中也存在自噬現象。但番鴨里奧病毒 YB 株目前在 S 組基因上未發現有編碼 p17 蛋白的 ORF 和其同源蛋白。因此，未來進一步探討番鴨里奧病毒誘導細胞自噬的功能蛋白及其對病毒複製的影響，將可了解番鴨里奧病毒致病性增強的機制。

分析比較番鴨里奧病毒 S 組基因編碼 (S1 基因轉譯  $\sigma A$ 、S2 基因轉譯 NS、S3 基因轉譯  $\sigma B$ 、S4 基因轉譯  $\sigma C$  和 P10) 及家禽里奧病毒 S 組基因編碼 (S1 基因轉譯  $\sigma C$ 、P10 和 P17, S 2 基因轉譯  $\sigma A$ , S3 基因轉譯  $\sigma B$ , S4 基因轉譯  $\sigma NS$ )。番鴨里奧病毒 S 組基因編碼蛋白少一個 P17 蛋白。可見，S 組基因編碼蛋白的變異與番鴨里奧病毒致病性增強可能有關係。分析比較番鴨及家禽里奧病毒  $\sigma C$  蛋白的基因，發現它們之間的同源性極低，僅 26-30%。因此未來可進一步探討番鴨  $\sigma C$  蛋白的生物學功能及番鴨里奧病毒致病性的關係具有重要的意義。文獻報告番鴨里奧病毒 P10 蛋白具有誘導細胞凋亡的功能

(家禽里奧病毒  $\sigma$ C 蛋白亦有相同之生物功能)，但是番鴨里奧病毒  $\sigma$ C 蛋白是否仍具有誘導細胞凋亡功能或者與 P10 蛋白共同誘導細胞凋亡，未來可進一步研究證實。

前人研究已證實家禽里奧病毒 P10 蛋白可誘導的細胞融合。番鴨里奧病毒 YB 株感染雛番鴨可導致多量和多部位的壞死點，比家禽里奧病毒 P10 蛋白所誘導之細胞融合更明顯，可探討是否番鴨里奧病毒感染雛番鴨的致病能力增強有關。但經我們分析番鴨里奧病毒(YB、89026、89330 株)P10 蛋白和家禽里奧病毒 P10 蛋白的核酸序列相似度低。因此未來可進一步分析番鴨里奧病毒 P10 蛋白誘導細胞融合能力是否與其蛋白序列及結構改變有關，P10 蛋白誘導細胞融合能力之增強是否與病毒致病性的增強有關。這些問題仍待釐清，以進一步了解番鴨里奧病毒感染雛番鴨的致病能力增強之機序。

## 心得及建議

禽類里奧病毒在不同時期、不同地區、不同宿主的病毒分離株的致病性差異很大，臨床疾病和病理變化形式也不盡相同。中國大陸於 2001 年首次確認了引起番鴨“肝白點病”的病原為番鴨里奧病毒。現已發現在番鴨、半番鴨、鵝等都會感染里奧病毒。從目前的研究資料分析，禽類里奧病毒的致病性是病毒多基因變異、並與感染宿主年齡和感染途徑等因素相互綜合作用的結果。不同禽種來源之里奧病毒或相同禽種來源的不同毒株對感染宿主不同組織器官的親嗜性差異大，並表現出不同的臨床致病性和致病。目前的研究分析顯

示，禽類里奧病毒的致病性取決於病毒在感染禽體內的複製效率和強度，此與病毒感染特定的宿主有關、與病毒在感染禽體內擴散和複製的能力有關、與病毒感染細胞、細胞自噬和凋亡過程有關、亦與病毒蛋白與宿主細胞蛋白之相互作用有關。同時可能也是病毒各蛋白協同作用的結果，其中 S 組基因在提高病毒複製能力方面，可能發揮了重要作用。

未來可進一步分析研究包括 (1)雖然家禽里奧病毒 S 組基因編碼蛋白的生物學功能已獲更多證實，但是由於番鴨里奧病毒在臨床上的致病力發生改變，且與家禽里奧病毒核酸序列差異不小，因此，有必要進一步研究番鴨里奧病毒 S 組基因編碼蛋白的功能。(2) 釐清番鴨里奧病毒致病力增強的機制。家禽里奧病毒在雞主要是以慢性感染為主，其感染所引起的死亡率不高，但是番鴨里奧病毒感染卻造成高死亡率。經分析比較也證實家禽里奧病毒及番鴨里奧病毒兩種病毒之  $\sigma C$  及 p10 蛋白之基因序列相似度低及他們之生物功能可能不同。因此可研究釐清番鴨里奧病毒  $\sigma C$  及 p10 蛋白是否與病毒致病性的增強有關，進一步了解番鴨里奧病毒感染雛番鴨的致病能力增強之機序。

(3) 番鴨里奧病毒並無 P17 蛋白，那麼 P17 蛋白的缺失是否與其毒力的增強或者影響病毒的複製效率有關呢？(4)研究了解番鴨里奧病毒進入細胞、誘導細胞融合、細胞自體吞噬和細胞凋亡的信息傳遞路徑及調控是否不同於家禽里奧病毒。

## 附錄



於中國大陸福建農林大學動物科技學院介紹中興大學之過去及現況。



於中國大陸福建農林大學動物科技學院之師生進行研究及學術交流。



參訪福建莆田市之番鴨飼養場(一)，與福建農林大學動物科技學院王全溪老師討論番鴨感染里奧病毒後引起肝白點病或花肝病之防疫之情形。



參訪福建莆田市之番鴨飼養場(一)，與當地農民討論飼養管理及番鴨感染里奧病毒後引起肝白點病或花肝病之防疫之情形。



參訪福建莆田市之番鴨飼養場(一)，與福建農林大學動物科技學院王全溪及吳異健老師及當地獸醫站獸醫師討論番鴨里奧病毒引起肝白點病或花肝病之疫情及防治。



參訪福建莆田市之番鴨飼養場(二)後之合照留。



參訪福建莆田市之番鴨飼養場(二)後，與福建農林大學動物科技學院王全溪老師及當地獸醫站獸醫師討論番鴨里奧病毒引起肝白點病或花肝病之疫情。