

引用格式:

刘思勤, 祁浩瑞, 雷佳佳, 任超. 非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫对雏鸡组织荷虫量及脾脏细胞因子表达水平的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 76–81.

LIU S Q, QI H R, LEI J J, REN C. The effect of the parasite load and expression levels of splenic cytokines in chicks infected with nonreplicating *Toxoplasma* uracil auxotrophs[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(4): 76–81.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫对雏鸡组织荷虫量及脾脏细胞因子表达水平的影响

刘思勤<sup>1,2</sup>, 祁浩瑞<sup>1,2</sup>, 雷佳佳<sup>1,2</sup>, 任超<sup>1,2\*</sup>

(1.天津农学院动物科学与动物医学学院, 天津 300392; 2.天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室, 天津 300392)

**摘 要:** 将 2 周龄雏鸡随机分成 3 组, 试验组雏鸡颈部皮下注射 0.1 mL  $10^7$  个/mL 非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫(NRTUAs), 感染对照组和空白对照组分别注射等剂量的 RH 虫株和 PBS; 于感染的第 4 天采集各组雏鸡的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、睾丸、法氏囊、胸腺、脑、胸肌、腿肌组织, 提取其 DNA, 采用绝对荧光定量 PCR 检测各器官组织的荷虫量; 提取剩余脾脏组织的 RNA, 采用相对荧光定量 PCR 仪检测脾脏中 *IL-1 $\beta$* 、*IL-6*、*TNF- $\alpha$* 、*CCL26*、*STAT1*、*IRF1*、*IFN- $\gamma$* 、*IL-10* 的转录水平。结果表明, 雏鸡感染弓形虫的第 4 天, 各器官组织不能完全清除 NRTUAs, 除肝脏、睾丸、腿肌和脑组织外, NRTUAs 组的组织荷虫量均显著低于 RH 组的; NRTUAs 刺激脾脏不会使免疫相关细胞因子的转录水平显著上调或下调, 说明 NRTUAs 是致病性较低的虫株, 不会刺激雏鸡脾脏引发强烈的先天性免疫反应, 不会引起促炎、抑炎因子的过量产生。

**关 键 词:** 雏鸡; 非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫; 组织荷虫量; 脾脏细胞因子表达水平; 荧光定量 PCR  
中图分类号: S852.72 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2024)04-0076-06

## The effect of the parasite load and expression levels of splenic cytokines in chicks infected with nonreplicating *Toxoplasma* uracil auxotrophs

LIU Siqin<sup>1,2</sup>, QI Haorui<sup>1,2</sup>, LEI Jiajia<sup>1,2</sup>, REN Chao<sup>1,2\*</sup>

(1.College of Animal Science and Veterinary Medicine, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China; 2.Tianjin Key Laboratory of Agricultural Animal Breeding and Healthy Husbandry, Tianjin 300392, China)

**Abstract:** The 2-week-old chicks were randomly divided into 3 groups. The chicks of experimental group were injected subcutaneously with 0.1 mL inoculum suspension containing  $10^7$  nonreplicating *Toxoplasma* uracil auxotrophs (NRTUAs) per milliliter, and the chickens of the infected control group (RH group) and the blank control group were injected with equal doses of the virulent *Toxoplasma gondii* RH strains and PBS respectively. On the 4<sup>th</sup> day of infection, the heart, liver, spleen, lung, kidney, testis, bursa of Fabricius, thymus, brain, pectoral muscle and leg muscle of chicks in each group were collected, from which tissue DNA was extracted. The parasite load in each organ was detected by absolute fluorescence quantitative PCR. RNA was extracted from the remaining spleen of each group, and the transcription levels of *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *TNF- $\alpha$* , *CCL26*, *STAT1*, *IRF1*, *IFN- $\gamma$*  and *IL-10* in spleens were detected by relative fluorescent quantitative PCR. The results showed that on the 4<sup>th</sup> day of *Toxoplasma* infection, NRTUAs were not completely cleared from all organs, and the parasite load of NRTUAs group was lower than that of RH group except for liver, testis, leg muscle and brain. Among them, the parasite load of heart in NRTUAs group accounted for 1.14% of

收稿日期: 2023-10-20

修回日期: 2024-04-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31902277); 中央引导地方科技发展资金科技成果转化项目(23ZYCGSN00080)

作者简介: 刘思勤(1996—), 男, 四川富顺县人, 硕士研究生, 主要从事寄生虫学研究, 576301102@qq.com; \*通信作者, 任超, 博士, 实验师, 主要从事动物免疫学与寄生虫学研究, chaoren04050110@163.com

that in the RH group, the parasite load of pectoralis in the NRTUAs group accounted for 0.63% of that in the RH group, the parasite load of spleen in the NRTUAs group accounted for 10.01% of that in the RH group, the parasite load of lung in the NRTUAs group accounted for 0.18% of that in the RH group, the parasite load of kidney in the NRTUAs group accounted for 2.86% of that in the RH group, the parasite load of thymus in the NRTUAs group accounted for 1.33% of that in the RH group, and the parasite load of bursa of Fabricius in NRTUAs group accounted for 0.75% of that in the RH group. The measured immune-related cytokines were not significantly up-regulated or down-regulated in the spleens with NRTUAs stimulation, the expression levels of which were similar to those in the PBS group. Therefore, NRTUAs was a low pathogenic strain, which did not stimulate strong innate immune response or excessive production of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors in chicks spleens.

**Keywords:** chicks; nonreplicating *Toxoplasma* uracil auxotrophs(NRTUAs); parasite load; expression levels of cytokines in spleen; real-time PCR

弓形虫病是一种长期流行的人畜共患病。家禽罹患弓形虫病的情形很常见。调查结果表明, 云南省家禽中弓形虫平均抗体阳性率为 4.48%, 江西省家禽血清弓形虫抗体总阳性率为 2.89%, 吉林省家禽血清弓形虫抗体总阳性率为 10.6%<sup>[1]</sup>。在散养鸡群中, 食入弓形虫卵囊的鸡群的血清弓形虫抗体阳性率较高<sup>[2-3]</sup>。弓形虫通过食物链感染人类。对于弓形虫病的防治依然缺乏有效的疫苗和药物。临床上采用磺胺嘧啶和乙胺嘧啶治疗人弓形虫病, 但这些药物会产生不良反应且无法彻底抑制虫体的增殖<sup>[4]</sup>。为了防控家禽弓形虫病的传播及维护人类健康, 禽用弓形虫疫苗的研发迫在眉睫。

非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫(nonreplicating *Toxoplasma* uracil auxotrophs, NRTUAs)是采用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术将弓形虫的乳清酸核苷-5'-单磷酸脱羧酶基因(*ompdc*)和尿嘧啶核苷磷酸化酶基因(*up*)进行双敲除, 从而阻断弓形虫的嘧啶从头合成途径和嘧啶补救途径的虫株<sup>[5]</sup>。NRTUAs 具有独特的表型, 虫体只能入侵宿主细胞, 但无法在宿主体内增殖, 进而降低弓形虫的毒力和致病性, 为临床应用提供安全保障<sup>[5-6]</sup>。以小鼠为模型, NRTUAs 初次免疫  $1 \times 10^4$  个虫体就可以激发宿主产生保护性免疫应答, 从而对抗野生型弓形虫的感染, 说明 NRTUAs 可作为潜在的减毒活疫苗株, 有望应用于畜禽养殖业<sup>[7]</sup>。但目前 NRTUAs 在家禽上鲜有研究, 且针对家禽弓形虫病的防治措施也十分有限。吴绿怡等<sup>[8]</sup>通过转录组学分析发现, 感染 NRTUAs 3 d 后, 雏鸡脾脏通过上调相关免疫因子的表达, 加快建立细胞连接及启动先天性免疫反应来对抗弓形虫的入侵。在 2 周龄雏鸡试验组中的每只雏鸡颈部皮下注射 0.1 mL  $10^7$  个/mL

NRTUAs, 感染对照组和空白对照组分别注射等剂量的 RH 虫株和 PBS; 在感染的第 4 天, 采集各组雏鸡的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、睾丸、法氏囊、胸腺、脑、胸肌、腿肌组织, 提取其 DNA, 利用绝对荧光定量 PCR 仪检测各器官组织荷虫量; 提取剩余脾脏的 RNA, 采用相对荧光定量 PCR 检测脾脏中 *IL-1 $\beta$* 、*IL-6*、*TNF- $\alpha$* 、*CCL26*、*STAT1*、*IRF1*、*IFN- $\gamma$* 、*IL-10* 的转录水平, 以期探讨 NRTUAs 对家禽先天性免疫的调节机制, 为禽用弓形虫疫苗的研发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

自山东济南赛福实验动物养殖有限公司购买 9 只 1 日龄雄性罗曼蛋鸡, 体质量( $25 \pm 2$ ) g, 饲喂至 2 周龄。NRTUAs 和弓形虫 RH 虫株由中国农业大学国家动物原虫实验室保存并提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 感染弓形虫雏鸡的器官组织荷虫量的检测

选择适宜稀释倍数的 B1 标准质粒, 绘制标准曲线。将 2 周龄雏鸡随机分成 3 组, 每组 3 只, 在试验组雏鸡颈部皮下注射 0.1 mL NRTUAs, 感染对照组注射 0.1 mL  $10^7$  个/mL RH 虫株, 空白对照组则注射等剂量的 PBS。在感染后第 4 天, 各组剖检, 采集雏鸡的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、睾丸、法氏囊、胸腺、脑、胸肌、腿肌等器官组织, 分别进行匀浆, 按照天根生化科技(北京)有限公司 DNA 提取试剂盒(DP304)说明书提取其 DNA, 取 1  $\mu$ L 进行绝对荧光定量 PCR。B1 基因部分序列参考 GenBank (AF179871.1), B1 引物及探针参照文献

[9], 列于表 1。根据定量结果计算各组织器官的拷贝数, 并计算各组织器官的荷虫量。

表 1 qPCR 反应引物及探针

Table 1 Primers and probes for qPCR reactions		
引物(探针)	引物序列(5'-3')	产物序列长度/bp
B1-F	TCCCCCTCTGCTGGCGAAAAGT	98
B1-R	AGCGTTCGTGGTCAACTATCGATTG	
B1-Probe	6FAM-TCTGTGCAACTTTGGTGTATTGCGCAG-NFQ-MGB	

### 1.2.2 感染弓形虫的雏鸡脾脏细胞因子转录水平的检测

取感染第 4 天的雏鸡的脾脏组织进行匀浆, 按照武汉赛维尔生命科技有限公司的 RNA 提取液(G3013)说明书提取 RNA。cDNA 转录参考武汉赛维尔生命科技有限公司的反转录试剂盒(G3330)说明书进行操作, 获得的 cDNA 于-20℃保存。按照武汉赛维尔生命科技有限公司的 SYBR Green qPCR Master Mix(G3320)说明书进行相对荧光定量 PCR, 检测雏鸡脾脏的细胞因子转录水平。相关细胞因子引物运用 Primer Premier 5.0 软件设计, 引物列于表 2。

表 2 雏鸡细胞因子 qPCR 反应的引物

Table 2 Primers for qPCR of cytokines in chicks		
引物	引物序列(5'-3')	产物序列长度/bp
GAPDH-F	CTGGGGCTCATCTGAAGGGT	308
GAPDH-R	GGACGCTGGGATGATGTTCT	
IL-1β-F	TACATGTCGTGTGTGATGAGCG	224
IL-1β-R	TGGTCGGGTTGGTTGGTGAT	
IL-6-F	CCTGTTTCGCTTCAGACCTAC	185
IL-6-R	TCAGATTGGCGAGGAGGGAT	
TNF-α-F	TTGACTTGGCTGTCGTGTGG	136
TNF-α-R	TATAAGAACCAACGTGGGCATT	
CCL26-F	AACTGCTGGATTGAGATGGCCTA	106
CCL26-R	CATTGTGCTGCTGGTGATGATAG	
STAT1-F	TCACTTCCCATCATTGTCATCTCT	97
STAT1-R	AATTCTTGGGATCAGTAGACAGCA	
IRF1-F	ACAAAGGACCAGAAGAAGGAAAGG	121
IRF1-R	GAGTGCTGGTTAGTCGTTCTGCT	
IFN-γ-F	AAGCTCCCGATGAACGACTTG	125
IFN-γ-R	TTGCATCTCCTCTGAGACTGGC	
IL-10-F	GGGTGAAGTTTGAGGAAATTAAGGA	264
IL-10-R	AGGTGAAGAAGCGGTGACAGC	

### 1.3 数据处理

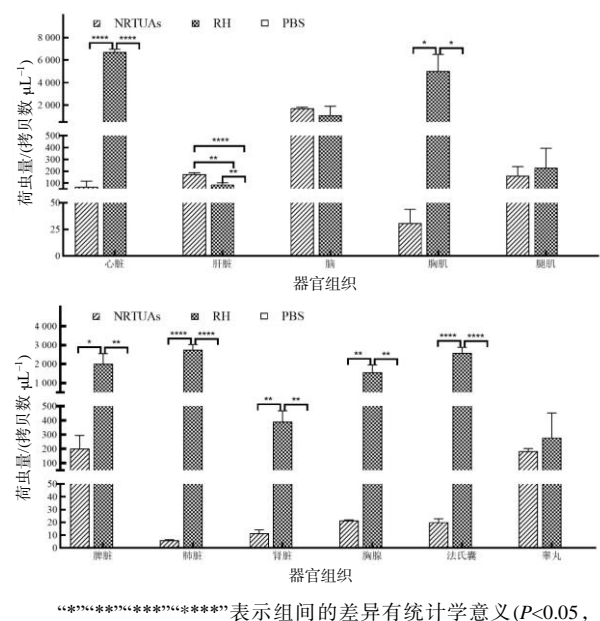
利用 Graphad Prism 8.0.2 软件进行数据的统计与分析。选用 Ordinary one-way ANOVA 分析试验

数据, Tukey 法进行显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 感染弓形虫雏鸡的器官组织荷虫量

雏鸡感染弓形虫第 4 天器官组织的荷虫量如图 1 所示。NRTUAs 组和 PBS 组雏鸡的心脏、肺脏、法氏囊的荷虫量极显著低于 RH 组的; NRTUAs 组雏鸡的肝脏荷虫量极显著高于 RH 组和 PBS 组的, RH 组极显著高于 PBS 组的; NRTUAs 组和 PBS 组胸肌荷虫量显著低于 RH 组的; 各组雏鸡脑、腿肌、睾丸中的荷虫量均无显著差异; NRTUAs 组脾脏荷虫量显著低于 RH 组的, PBS 组极显著低于 RH 组的; NRTUAs 组和 PBS 组肾脏的荷虫量和胸腺的荷虫量均极显著低于 RH 组的。这些结果表明 2 周龄雏鸡感染弓形虫的第 4 天, 各器官组织不能完全清除 NRTUAs, 且除肝脏、睾丸、腿肌和脑组织外, NRTUAs 组的组织器官荷虫量均低于 RH 组的, 说明 NRTUAs 是致病性较弱的虫株。



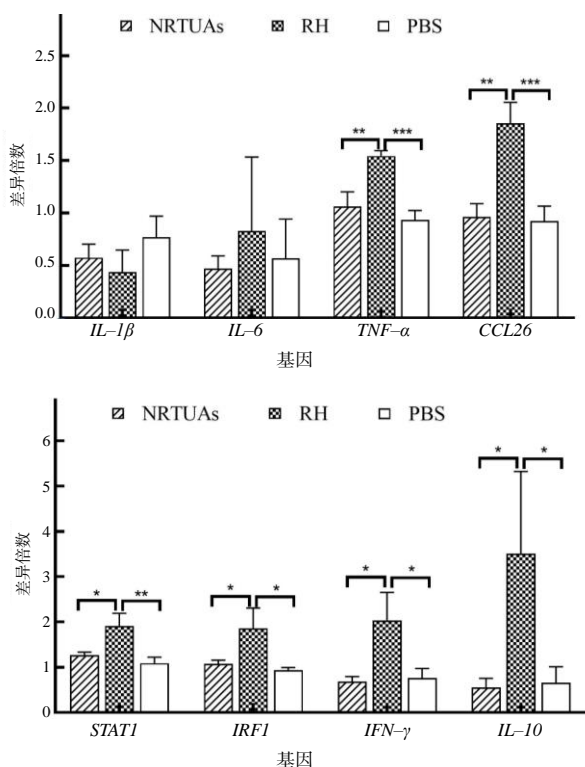
\*\*\*表示组间的差异有统计学意义( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.0001$ )。

图 1 感染弓形虫雏鸡的器官组织荷虫量

Fig.1 Parasite load in different organs and tissues of chicks after *Toxoplasma* infection

## 2.2 感染弓形虫雏鸡脾脏的细胞因子的转录水平

感染弓形虫第 4 天雏鸡的脾脏细胞因子转录水平如图 2 所示。各组间 *IL-1 $\beta$*  和 *IL-6* 的转录水平无显著差异;NRTUAs 组和 PBS 组的 *TNF- $\alpha$*  和 *CCL26* 的转录水平极显著低于 RH 组的;NRTUAs 组的 *STAT1* 转录水平显著低于 RH 组的,PBS 组的 *STAT1* 转录水平极显著低于 RH 组的;NRTUAs 组和 PBS 组的 *IRF1*、*IFN- $\gamma$*  和 *IL-10* 的转录水平均显著低于 RH 组的。由于 *TNF- $\alpha$* 、*CCL26*、*STAT1*、*IRF1*、*IFN- $\gamma$*  的高表达会使炎症反应加剧,诱导免疫系统显著上调 *IL-10* 的表达,RH 虫株刺激雏鸡脾脏引发的先天性免疫反应较 NRTUAs 的更强烈,而 NRTUAs 刺激脾脏不能显著上调或下调所测免疫相关细胞因子的表达,其转录水平与 PBS 组的相似,说明 NRTUAs 不会刺激雏鸡脾脏引发强烈的先天性免疫反应,不会引起促炎、抑炎因子的过量产生。



\*\*\*\*分别表示组间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。

图 2 感染弓形虫雏鸡脾脏的细胞因子转录水平

Fig.2 Cytokine transcription levels in chick spleens after *Toxoplasma* infection

## 3 结论与讨论

2 周龄雏鸡感染弓形虫的第 4 天,各器官组织

不能完全清除 NRTUAs,且刺激脾脏不能显著上调或下调所测免疫相关细胞因子的表达,说明 NRTUAs 是致病性较弱的虫株,不刺激雏鸡脾脏引发强烈的先天性免疫反应,不会引起促炎、抑炎因子的过量产生。

NRTUAs 虫株由于缺乏增殖能力,对雏鸡的刺激作用较小,致病性较低,在雏鸡体内会被缓慢清除<sup>[6]</sup>。而 RH 虫株感染能够激活雏鸡的先天性免疫反应,引发免疫系统和虫体的激烈对抗,导致部分虫体被免疫系统清除。但 RH 虫株能够快速增殖,且具有特殊的免疫逃避机制,使得部分虫体绕过了免疫监视,继续在雏鸡体内增殖发育<sup>[10-11]</sup>。本研究结果表明,除肝脏、睾丸、腿肌和脑组织外,NRTUAs 组荷虫量均显著低于 RH 组的,而在肝脏、睾丸、腿肌和脑组织中 NRTUAs 组的荷虫量高于或接近于 RH 组的水平,可能是由于虫体进入雏鸡体内时间较短,2 周龄左右的雏鸡免疫器官尚处于发育阶段,免疫机能不完善,此时主要激活的是宿主的先天性免疫反应,可以削减虫体数量,但不能完全清除虫体<sup>[12-14]</sup>。此外,弓形虫入侵宿主细胞能够分泌特殊蛋白来抵抗宿主的免疫反应,阻碍雏鸡免疫系统对虫体的清除<sup>[15]</sup>,且弓形虫存在组织嗜性,虫体可由宿主血液循环系统以及肌球蛋白和肌动蛋白协同工作,滑行运动到偏好器官中定居<sup>[16-17]</sup>。

弓形虫入侵雏鸡脾脏时,固有免疫细胞表面的模式识别受体(PRR)识别虫体并与其表面的模式配体分子(PAMP)结合,引起一系列信号转导和级联反应,激活转录因子调控相关基因的表达。肥大细胞等免疫细胞分泌炎症趋化因子 CCL26 与受体 CCR3 结合,能够诱导嗜酸性粒细胞等定向趋化,将多种免疫细胞募集到产生炎症反应的脾脏组织中<sup>[18-19]</sup>。巨噬细胞受到 NRTUAs 或 RH 虫株刺激后,分泌 *TNF- $\alpha$* 、*IL-1 $\beta$* 、*IL-6* 等促炎细胞因子,共同调控 Th1 型免疫应答,加快炎症反应进程<sup>[20]</sup>。*STAT1*、*IRF1*、*IFN- $\gamma$*  作为免疫相关因子,在 2 种虫株刺激雏鸡脾脏中也起到促炎作用。*STAT1* 被 *IFN- $\gamma$* 、*IL-6* 等因子激活,介导多种免疫相关基因的表达<sup>[21]</sup>,且 *TNF- $\alpha$*  和 *PGE2* 能够诱导 *STAT1* 丝氨酸磷酸化,促进 *IRF1* 的表达<sup>[22]</sup>。*IRF1* 促进免疫细胞分化的同时,诱导 *IFN* 和趋化因子的分泌<sup>[23-25]</sup>。*IFN- $\gamma$*  由活化的 T 细胞和 NK 细胞分泌,受到 *IL-12*、*IRF1* 等细胞

因子的正向调控。能够刺激免疫细胞的成熟和分化,从而激活适应性免疫反应<sup>[26-27]</sup>。Th2 型细胞因子 IL-10 是炎症进程中主要的抑炎因子。它通过下调部分前哨细胞表面 MHC II 类分子和 T 细胞表面共刺激分子的表达,抑制抗原递呈功能,维持促炎效应与抑炎效应的动态平衡<sup>[28]</sup>。IL-10 能够负反馈调节 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等促炎因子的表达,并通过抑制 T 细胞表面共刺激分子的信号转导影响 T 细胞活化<sup>[29-30]</sup>。

在本研究中,NRTUAs 组雏鸡脾脏的细胞因子转录水平与 PBS 组的无显著差异,但显著或极显著低于 RH 组的,说明在先天性免疫阶段,NRTUAs 刺激雏鸡脾脏不会引起显著的炎症反应;而 RH 虫株刺激雏鸡脾脏后高表达促炎因子促进 Th1 型免疫反应,加剧炎症反应,而后通过 Th2 型细胞因子的高表达负反馈调控免疫系统。任超等<sup>[17]</sup>研究发现,NRTUAs 对小鼠的致病性较低,NRTUAs 组小鼠各器官的荷虫量水平均低于 RH 组的,NRTUAs 刺激小鼠脾脏诱导的炎症反应程度显著轻于 RH 组的,避免因过度的免疫反应而导致器官组织的受损。后续将研究 NRTUAs 对雏鸡先天性免疫的调节作用机制,从延长检测时间、增加样本量和检测器官组织的种类入手,综合采取免疫印迹、免疫共沉淀、免疫组织化学、可见光活体成像技术等,研究 NRTUAs 在体内的迁移、分布与清除过程,以及 NRTUAs 刺激各免疫器官和免疫组织的细胞因子和相关免疫通路的变化,以期促进禽用弓形虫疫苗的开发。

## 参考文献:

- [1] 陈小庆,韩如意,杜子成,等. 江西省散养家禽弓形虫感染的血清学调查与分析[J]. 中国家禽,2022,44(6): 83-87.
- [2] 丁关娥,徐明宝,周永华,等. 无锡地区鸡弓形虫感染的血清流行病学调查[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2012,24(2): 243,封3.
- [3] 郑斌,李金娜. 国内猪、牛和鸡弓形虫感染情况及危险因素研究进展[J]. 中国动物检疫,2016,33(3): 67-70.
- [4] DUBEY J P. The history of *Toxoplasma gondii*: the first 100 years[J]. The Journal of Eukaryotic Microbiology, 2008, 55(6): 467-475.
- [5] 任超,王超越,刘贤勇,等. 非复制型弓形虫的构建及其对小鼠致病性分析[J]. 中国农业大学学报,2021,26(5): 83-91.
- [6] FOX B A, BUTLER K L, GUEVARA R B, et al. Cancer therapy in a microbial bottle: Uncorking the novel biology of the protozoan *Toxoplasma gondii*[J]. PLoS Pathogens, 2017, 13(9): e1006523.
- [7] FOX B A, BZIK D J. Avirulent uracil auxotrophs based on disruption of orotidine-5'-monophosphate decarboxylase elicit protective immunity to *Toxoplasma gondii*[J]. Infection and Immunity, 2010, 78(9): 3744-3752.
- [8] 吴绿怡,刘思勤,廖艳鹏,等. 非复制型尿嘧啶营养缺陷型弓形虫刺激雏鸡脾脏的转录组学分析[J]. 南方农业学报,2023,54(3): 774-783.
- [9] LIN M H, CHEN T C, KUO T T, et al. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(11): 4121-4125.
- [10] LANG C, GROSS U, LÜDER C G K. Subversion of innate and adaptive immune responses by *Toxoplasma gondii*[J]. Parasitology Research, 2007, 100(2): 191-203.
- [11] LIMA T S, LODOEN M B. Mechanisms of human innate immune evasion by *Toxoplasma gondii*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2019, 9: 103.
- [12] FOX B A, SANDERS K L, ROMMEREIM L M, et al. Secretion of rhoptry and dense granule effector proteins by nonreplicating *Toxoplasma gondii* uracil auxotrophs controls the development of antitumor immunity[J]. PLoS Genetics, 2016, 12(7): e1006189.
- [13] DUPONT C D, CHRISTIAN D A, SELLECK E M, et al. Parasite fate and involvement of infected cells in the induction of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell responses to *Toxoplasma gondii*[J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(4): e1004047.
- [14] SASAI M W, YAMAMOTO M. Innate, adaptive, and cell-autonomous immunity against *Toxoplasma gondii* infection[J]. Experimental & Molecular Medicine, 2019, 51(12): 1-10.
- [15] AHMADPOUR E, BABAIE F, KAZEMI T, et al. Overview of apoptosis, autophagy, and inflammatory processes in *Toxoplasma gondii* infected cells[J]. Pathogens, 2023, 12(2): 253.
- [16] GRAS S, JIMENEZ-RUIZ E, KLINGER C M, et al. An endocytic-secretory cycle participates in *Toxoplasma gondii* in motility[J]. PLoS Biology, 2019, 17(6): e3000060.
- [17] 任超,王超越,卢春霞,等. NRTUAs 感染对小鼠的组织荷虫量及脾脏细胞因子转录水平的影响[J]. 中国农业大学学报,2022,27(12): 180-188.
- [18] LUCENDO A J, DE REZENDE L, COMAS C, et al.

- Treatment with topical steroids downregulates IL-5, eotaxin-1/CCL11, and eotaxin-3/CCL26 gene expression in eosinophilic esophagitis[J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2008, 103(9): 2184–2193.
- [19] JIN H, KONG Z M, MEHBOOB A, et al. Transcriptional profiles associated with Marek's disease virus in bursa and spleen lymphocytes reveal contrasting immune responses during early cytolytic infection[J]. *Viruses*, 2020, 12(3): 354.
- [20] IDRIS H T, NAISMITH J H. TNF $\alpha$  and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s)[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2000, 50(3): 184–195.
- [21] MATSUKAWA A. STAT proteins in innate immunity during sepsis: lessons from gene knockout mice[J]. *Acta Medica Okayama*, 2007, 61(5): 239–245.
- [22] HU Y, PARK-MIN K H, YARILINA A, et al. Regulation of STAT pathways and IRF1 during human dendritic cell maturation by TNF- $\alpha$  and PGE2[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008, 84(5): 1353–1360.
- [23] XIANG C W, YANG Z K, XIONG T, et al. Avian IRF1 and IRF7 play overlapping and distinct roles in regulating IFN-dependent and-independent antiviral responses to duck tembusu virus infection[J]. *Viruses*, 2022, 14(7): 1506.
- [24] LIU Y X, CHENG Y Q, SHAN W Y, et al. Chicken interferon regulatory factor 1(IRF1) involved in antiviral innate immunity via regulating IFN- $\beta$  production[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 88: 77–82.
- [25] NAIR S, MICHAELSEN-PREUSSE K, FINSTERBUSCH K, et al. Interferon regulatory factor-1 protects from fatal neurotropic infection with vesicular stomatitis virus by specific inhibition of viral replication in neurons[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(3): e1003999.
- [26] ROUYEZ M C, LESTINGI M, CHARON M, et al. IFN regulatory factor-2 cooperates with STAT1 to regulate transporter associated with antigen processing-1 promoter activity[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 174(7): 3948–3958.
- [27] SCHOENBORN J R, WILSON C B. Regulation of interferon- $\gamma$  during innate and adaptive immune responses[J]. *Advances in Immunology*, 2007, 96: 41–101.
- [28] AKDIS C A, AKDIS M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells[J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009, 123(4): 735–746.
- [29] MEILER F, ZUMKEHR J, KLUNKER S, et al. *In vivo* switch to IL-10-secreting T regulatory cells in high dose allergen exposure[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2008, 205(12): 2887–2898.
- [30] TAYLOR A, AKDIS M, JOSS A, et al. IL-10 inhibits CD28 and ICOS costimulations of T cells via src homology 2 domain—containing protein tyrosine phosphatase 1[J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2007, 120(1): 76–83.

责任编辑: 罗慧敏  
英文编辑: 罗维