

鸡马立克氏病毒和网状内皮增生病毒感染肉鸡时的相互作用*

庄国庆¹, 孙淑红¹, 崔治中^{1**}, 曲立新²

(1. 山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271018; 2. 山东益生畜禽疾病研究院, 山东烟台 265508)

Interaction of Marek's Disease Virus and Reticuloendotheliosis Virus in Co-infected Broilers

ZHUANG Guo-qing¹, SUN Shu-hong¹, CUI Zhi-zhong^{1**}, QU Li-xin²

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China, 2. Shandong Yisheng Institute for Animal and Poultry Diseases, Yantai 265508, China)

Abstract : To understand the interaction between Marek's disease viruses (MDV) and *Reticuloendotheliosis viruses* (REV) in co-infected chickens, their mutual influences on viremia levels and specific antibody titers were studied in REV maternal antibody positive (REV-ab⁺) or negative (REV-ab⁻) commercial broilers vaccinated with or without MDV vaccine CVI988. The results indicated that REV viremia did not influence the MDV viremia level and antibody titers after inoculation with virulent MDV in unvaccinated chickens. In chickens vaccinated with CVI988, however, REV viremia could significantly inhibit antibody titers ($p < 0.01$) and resistance to MDV, and compromised protective effect of CVI988 vaccine from MDV viremia in vaccinated birds. In another hand, MDV infection could decrease the resistance to REV infection in REV-ab⁺ chickens. REV inoculation caused no REV viremia in REV-ab⁺ chickens without MDV viremia but caused high titers of REV viremia in REV-ab⁺ chickens with MDV viremia. MDV viremia also decreased antibody responses to REV inoculation in REV-ab⁺ chickens. Analysis of the data suggested that co-infection of MDV and REV could influence each other's pathogenicity mainly through their inhibitory effects on chicken's immune functions.

Key words : Marek's disease virus ; Reticuloendotheliosis virus ; Co-infection ; Interaction ; Viremia

摘要 : 为了研究鸡马立克氏病毒 (MDV) 和网状内皮增生病毒 (REV) 共感染时的相互作用, 分别在 REV 母源抗体阳性 (REV-Ab⁺) 和阴性 (REV-Ab⁻) 及经 MDV 疫苗 CVI988 株免疫和不免疫的商品代肉鸡, 比较了二种病毒在病毒血症水平和特异抗体效价上的相互影响。结果表明, 在未经 CVI988 株免疫鸡, REV 病毒血症对 MDV 强毒接种后的病毒血症水平及抗体效价无明显影响, 但 REV 病毒血症显著抑制了 CVI988 疫苗免疫为鸡提供的抵抗力和抗体效价, 因而提高了强毒 MDV 感染后的病毒血症的程度。另一方面, MDV 感染会显著减弱 REV-Ab⁺ 鸡对 REV 感染的抵抗力, 提高 REV-Ab⁺ 鸡在感染 REV 后的病毒血症水平并抑制对它的抗体效价。分析表明, MDV 和 REV 共感染主要通过抑制鸡体的免疫功能来影响另一种病毒的复制及其致病作用。

关键词 : 马立克氏病毒 ; 网状内皮增生病毒 ; 共感染 ; 相互作用 ; 病毒血症

中图分类号 : S831.7

文献标识码 : A

文章编号 : 1003-5125(2006)02-0157-06

鸡马立克氏病毒 (Marek's disease virus, MDV) 是鸡群中最常见的一种致肿瘤性疱疹病毒, 可引起鸡

收稿日期 : 2005-09-05, 修回日期 : 2005-01-10

* 基金项目 : 国家自然科学基金重点项目 (30330450)

作者简介 : 庄国庆 (1978-), 男, 山东潍坊籍, 硕士研究生, 主要从事动物免疫学和动物分子病毒学研究。

** 通讯作者 : 崔治中 (1944 -)。江苏江阴籍。博士生导师。研究方向为分子病毒学。

Corresponding author. Tel: 0538-8241560, E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

的 T-淋巴细胞性肿瘤。MDV 普遍存在于自然界,特别是鸡群周围环境中的污染更为常见。在未经免疫的鸡群,其发病率和死亡率都很高。MDV 有三个血清型,其中只有 I 型是致病性的。但同是 I 型的弱毒 CVI988/Rispens 株可作为疫苗有效地预防和控制 MDV 诱发的肿瘤,迄今为止,这是唯一的一个可以用商品化疫苗免疫预防的肿瘤病^[1]。网状内皮增生病毒 (*Reticuloendotheliosis Virus*, REV) 为鸡群中一类致肿瘤的反转录病毒,还可引起从亚临床感染到生长迟缓、免疫抑制等不同的临床和病理变化。由于它很容易与其它引起类似症状和病理变化的疾病相混淆,在现场对该病的鉴别诊断就比较困难,所以对其自然感染造成的经济损失还一直估计不足^[2]。人们对 REV 的注意,主要是由于 REV 常常污染弱毒疫苗,如马立克氏病和禽痘的弱毒疫苗。弱毒疫苗中 REV 污染造成的鸡群 REV 早期感染及相应疫病问题,国外自上世纪 70 年代以来,已不断有所报道^[3-6]。在上世纪九十年代,我国国产马立克氏病疫苗中的 REV 污染也时常发生。

在八十年代,REV 感染在我国仅偶见报道^[7,8]。但近来发现,在一些鸡群中对 REV 抗体阳性率已相当高。何勇群等^[9]所作的调查表明,在北京郊区 7 个有不同症状的鸡场,对 REV 抗体阳性率可能高达 21.4~71.0%。在病原学研究方面,从所谓传染性腺胃病并发生生长迟缓的鸡群,或表现出明显免疫抑制状态的 50 日龄的后备种鸡群均分离到 REV^[10,11]。近几年来,即使在一些已用 CVI988/Rispens 液氮苗免疫的鸡群,仍有肿瘤发病率抬头的趋势,从这类鸡场的肿瘤病鸡,不仅发现有相当比例病鸡存在着 MDV 和 REV 的共感染^[12],而且还造成细胞类型不同的混合性肿瘤^[13]。

由于 REV 感染在我国鸡群中已相当普遍,我们推测,REV 的共感染是造成 CVI988 疫苗免疫鸡群中肿瘤发病率升高的重要原因。为了证明这一推测,本文模仿自然感染时的实际情况比较研究了 MDV 和 REV 共感染时在病毒血症和抗体水平上的相互作用。

1 材料和方法

1.1 病毒

所用的 REV-C99 株病毒,从带有 SNV 全基因前病毒 cDNA 的克隆 pB101^[13]质粒 DNA 转染 SPF 来源的鸡胚成纤维细胞而来。

MDV 实验用致病性 MDV 为超强毒 Md5 株的分子克隆化病毒 rMd5^[14],由美国农业部禽病和肿瘤研究所提供。

1.2 实验用商品代肉鸡

本研究选用商品代肉鸡用作实验。取 60 只 18 周龄 AA 肉用型父母代种鸡每只腹腔接种 0.3mL (相当于 0.2×10^6 TCID₅₀/mL) 30 代 REV-C99 (在 CEF 上连续 30 代致弱的细胞培养上清液,用作为弱毒疫苗接种 18 周龄 AA 父母代种鸡以诱发抗体形成) 隔离饲养。在接种病毒后 1、2、4、8、20 周龄采血测定对 REV 的抗体。同时从未经 REV 接种的同批父母代鸡采血,测定对 REV 的抗体。

在产蛋高峰的 32 周龄时,分别将 60 只接种 30 代 REV-C99 株病毒的对 REV 抗体呈阳性反应的种母鸡,隔离饲养。另外,从没有接种 REV 的同批种母鸡中选出的 60 只 REV 抗体为阴性的种鸡隔离饲养。分别收集种蛋孵化,出壳雏鸡分别用于本研究有母源抗体和无母源抗体的商品代肉鸡,所有鸡均按 AA 商品代肉鸡饲养手册规定的温度和饲料饲养。

1.3 实验鸡的免疫和攻毒

商品代雏鸡出壳后当天,所有鸡用 NDV 的 LaSota 株弱毒疫苗点眼滴鼻免疫。分别从有抗体和无抗体种鸡的种蛋孵出的雏鸡各取出一半按规定量注射液氮保存的 I 型 MDV 弱毒株 CVI988/Rispens,另一半不作 MDV 疫苗免疫。具体分组为:第一组:REV(Ab⁺)CVI988⁺,第二组:REV(Ab⁺)CVI988⁻,第三组:REV(Ab⁻)CVI988⁺,第四组:REV(Ab⁻)CVI988⁻。在第 2 天,所有鸡均接种 REV-C99 株在 CEF 上的第 3 代毒培养液 (10^4 TCID₅₀/ml) 0.2mL。第 8 日龄时,经 CVI988/Rispens 免疫的一和三组鸡每羽均接种含 2000 PFU 的 rMd5-CEF。第一组和第二组在同一室饲养,第三组和第四组在同一室饲养。未经 CVI988/Rispens 免疫的二和四组鸡不接种强毒 MDV,但任其自然横向感染。在 14 和 21 日龄用鸡传染性法氏囊病毒弱毒株 B87 作饮水免疫。

1.4 病毒血症的检测

1.4.1 间接免疫荧光法 (IFA) 检测 MDV 病毒血症水平:38 日龄时每组各取 6 只鸡均无菌采集抗凝血 1mL,混于装有 9mLDMEM 生长液的 50mL 塑料管中,以 1000r/min 离心,只将红细胞沉淀,含白细胞的血浆约有 8mL。每只鸡的样品取 1.0mL 接种于已铺满 CEF 单层的 6 孔板上的一个孔。放 37 含 5%CO₂ 的培养箱中培养 3h,将六孔板上含白细胞

的血浆用 D - Hank's 液洗干净, 加上 1% 的维持液, 培养 6d。将生长液倒掉, 用冷丙酮: 乙醇 (3:2) 固定液固定 5min, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 1 次, 加上 0.5mL (用 PBS 作 1:100 稀释) 的单克隆抗体 (Mab)H19^[16] (只与 I 型致病性 MDV 反应但与 CVI988/Rispens 不反应), 放 37 温箱反应 45min 后, 用 PBS 洗 3 次, 将水分甩干, 加上 FITC 标记的抗鼠 IgG 荧光抗体 (购于 Sigma 公司, 按说明书用 PBS 配制工作浓度) 0.5mL, 放 37 温箱反应 45min 后, 用 PBS 洗 3 次, 将水分甩干, 加一滴 50% 甘油, 在荧光显微镜下观察并计算 IFA 阳性的病毒蚀斑数。

1.4.2 间接免疫荧光法 (IFA) 检测 REV 病毒血症水平: 按照 1.4.1 方法取每只鸡的血浆样品 0.6mL, 用 2.4mLDMEM 稀释 (1:5) 后接种 6 孔板上一个孔; 再取上一个稀释度的液体 0.6mL, 用 2.4mLDMEM 稀释 (1:25) 后接种 6 孔板上第 2 个孔; 取 1:25 稀释液 0.6mL, 用 2.4mLDMEM 稀释 (1:125) 后接种 6 孔板上第 3 个孔, 接种后放 37 含 5%CO₂ 的培养箱中孵育 3h 后, 将 6 孔板上的血浆用 D - Hank's 液洗干净, 加上 0.8% 的软琼脂糖 (先配成 2.4% 软琼脂, 高压消毒后置于 42 , 用前与含 20% 新生犊牛血清的 DMEM 按 1:2 比例混合) 覆盖, 培养 5d, 将覆盖的软琼脂糖培养液凝胶完整地剥去, 用冷的丙酮: 乙醇 (3:2) 固定液固定 CEF 单层 5min 后, 用 REV 特异性单抗 11B118^[17] 作 IFA, 操作方法与上述 MDV 同。在荧光显微镜下观察并计算 IFA 阳性的病毒蚀斑数。

1.5 血清中特异性抗体的检测

1.5.1 MDV 抗体检测: 将 MDV 疫苗株 CVI988 接种新鲜的鸡胚成纤维细胞 (CEF), 待出现 MDV 蚀斑, 将瓶中的细胞传到 96 孔板上, 出现 MDV 蚀斑后, 用冷的丙酮: 乙醇 (3:2) 固定液固定 min, 置于冰箱中保存备用。在检测抗体前, 用 PBS 洗 1 次, 将鸡血清按 10 倍逐级稀释, 加到 96 孔板中, 放 37 含 5%CO₂ 的培养箱中反应 45min。取出后, 用 PBS 洗 3 次, 将水分甩干, 加上 FITC 标记的抗鸡 IgG 荧光抗体 (购于 Sigma 公司, 按说明书用 PBS 配制工作浓度) 50μL, 放 37 恒温箱中反应 45min, 取出后, 用 PBS 洗 3 次, 将水分甩干, 加上 50% 的甘油。在倒置荧光显微镜下观察, 以能显示 MDV 蚀斑荧光的血清最大稀释倍数为其抗体效价。

1.5.2 REV 抗体检测: 将 REV 接种新鲜的 CEF, 培

养 3d 后传到 96 孔板上, 继续培养 3d 后, 其余方法同 1.5.1。在倒置荧光显微镜下观察, 以能使 REV 感染的 CEF 呈现荧光的血清最大稀释倍数为其抗体效价。

1.6 数据的统计分析

用 Student's t 法分析比较各组间的差异显著性水平。

2 结果

2.1 MDV 和 REV 在 IFA 中显示的病毒蚀斑

在接种了血液样品后在 CEF 单层上, 如果存在 MDV 或 REV, 在 IFA 中将会分别呈现出显示荧光的特异性病毒蚀斑 (图 1)。由于单抗 H19 仅识别致病性 I 型 MDV 而与 II 型疫苗毒 CVI988/Rispens 不反应, 因此即使在用疫苗毒免疫过的鸡, 可显示和计数的蚀斑只代表所用的强毒 rMD5 复制而形成的蚀斑。由于 MDV 是严格的细胞结合病毒, 因而接种的血液样品中的一个有效感染性 MDV 病毒粒子通常只形成一个病毒蚀斑 (图 1-B)。在细胞培养中, REV 从最初感染的细胞中自由游离于培养液中并自由扩散并感染其他细胞。但在经软琼脂培养基覆盖的 CEF 单层上, 最初感染的细胞中复制的 REV 不再自由扩散, 一个有效感染性病毒粒子也只产生一个病毒蚀斑 (图 1-C)。这些蚀斑用于计算病毒血症的水平。

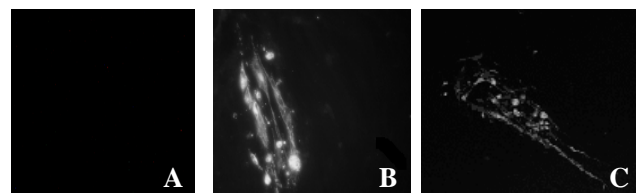


图 1 IFA 显示的病毒蚀斑

Fig. 1 Viral Plaques demonstrated in IFA

A: Negative control; B: A typical plaque of MDV; C: A typical plaque of REV

2.2 REV 母源抗体对 REV 病毒血症的影响

从表 1 可见, 经 MDV 弱毒疫苗 CVI988/Rispens 株免疫的鸡, REV 母源抗体可完全抑制攻 REV 后的病毒血症 (1 组和 2 组)。而在未经 CVI988/Rispens 株疫苗免疫的鸡, REV 母源抗体也可大大降低攻 REV 后的病毒血症水平 (3 组和 4 组)。

2.3 REV 与 MDV 共感染对病毒血症的相互影响

表 1 结果显示, 在经 MDV 弱毒疫苗 CVI988/Rispens 株免疫的鸡 (1 组和 2 组), 如果有 REV 母源抗体预防 REV 病毒血症, 在接种强毒 MDV 后, 5

表 1 不同免疫条件下肉鸡感染 REV 及强毒 MDV 后病毒血症的比较 (n=6)

Table 1 Comparison of viremia levels of REV and virulent MDV in broilers with different immune statuses (n=6)

Group	Immunity state		Inoculate Virus		Viremia (PFU/mL)	
	REV-Ab	CVI988	REV	MDV	REV	MDV
1	+	+	+	+	0 ^A ±0	0 ^A ±0
2	-	+	+	+	1441.7±1136.0 ^B	41.67±33.7 ^B
3	+	-	+	Contact infect	133.3±326.6 ^C	376.8±79.2 ^C
4	-	-	+	Contact infect	1808.3±1413.7 ^B	398.33±132.3 ^C

Note: The chickens of 1 and 3 groups have REV maternal antibody, yet 2 and 4 groups not. The chickens of 1 and 3 groups were vaccinated with MDV vaccine CVI988, yet 2 and 4 groups weren't vaccinated. REV were inoculated All the chickens (except the control chickens) at 2-day age, and raised in a room imitating natural conditions. The chickens of 1 and 2 groups were injected MDV at 8-day age, and 3 and 4 groups infected MDV through contacting the others. The REV and MDV viremia were jerked at 5-week age. The average with the same capital letters means no significance difference, (P>0.05); and the average with different capital letters means significant difference. (P<0.01); The viremia was denoted by $\bar{X} \pm SD$. The letter "n" means the number of the chickens.

周龄时都检不到强毒 MDV 病毒血症。但在 REV-Ab⁻ 鸡, 在显示 REV 病毒血症的同时, 也显示强毒 MDV 的病毒血症。而在未经 CVI988/Rispens 免疫的鸡 (3 组和 4 组), 虽然在有 REV-Ab⁺ 的鸡 (3 组) 的 REV 病毒血症比 REV-Ab⁻ 的鸡 (4 组) 低的多, 在 MDV 病毒血症水平上没有任何区别。但是, 却比经 MDV 弱毒疫苗 CVI988/Rispens 株免疫但 REV-Ab⁻ 的鸡高的多 (2 组)。这表明, REV 共感染时 MDV 病毒血症水平的影响主要是通过降低 CVI988/Rispens 疫苗的免疫效力发挥作用的。

同是在 REV-Ab⁻ 鸡 (2 组和 4 组), 强毒 MDV 病毒血症水平的高低并不影响攻 REV 后的病毒血症水平。但是, 在都有 REV 母源抗体的鸡 (1 组和

3 组), 如果不使用 CVI988/Rispens 疫苗预防 MDV 病毒血症, MDV 共感染造成的某种免疫抑制, 使 REV 母源抗体阳性的鸡不再能完全有效地抵抗 REV 感染造成的病毒血症。

2.4 MDV 和 REV 共感染对抗体效价的相互影响

2.4.1 REV 共感染时对 MDV 特异性抗体的影响: 表 2, 在有 REV 母源抗体并用 CVI988/Rispense 免疫的鸡 (1 组和 7 组), 其 MDV 特异性抗体的平均效价显著高于同是 REV 母源抗体阳性但未经 CVI988/Rispense 疫苗免疫但强毒株接种的鸡 (5 组) 或横向感染强毒 MDV 的鸡 (3 组)。这表明, 在 5 周龄时由接种疫苗 CVI988/Rispense 诱发的抗体效价远高于强毒 MDV 感染产生的 MDV 特异性抗体效价。

表 2 不同免疫条件下 REV 共感染对 MDV 特异性抗体水平的影响 (n=6)

Table 2 Influence of REV co-infection on antibody titers to MDV in broilers with different immune statuses (n=6)

Group	Immunity state		Inoculate Virus		MDV Antibody titers (Log10)
	REV-Ab	CVI988	REV	MDV	
1	+	+	+	+	3.8 ± 0.8 ^B
2	-	+	+	+	1.8 ± 1.0 ^A
3	+	-	+	Contact infect	1.5 ± 0.6 ^A
4	-	-	+	Contact infect	1.0 ± 0.6 ^A
5	+	-	+	+	1.8 ± 0.8 ^A
6	-	-	+	+	1.5 ± 1.1 ^A
7	+	+	+	contact infect	4.2 ± 1.0 ^B
8	-	+	+	contact infect	2.3 ± 1.6 ^A

Note: The chickens from 1 to 4 groups were the same as the table 1, and chickens from 5 to 8 groups were different ways of MDV infection. The antibody of two virus were detected at 5-week age. The average with the same capital letters means no significant difference. (P>0.05); and the average with not the same capital letters means significant difference. (P<0.01); The IFA antibody titers were denoted by $\bar{X} \pm SD$. The letter "n" means the number of the chickens.

在用 CVI988/Rispense 免疫的鸡 (1、2、7、8 组), 其诱发的 MDV 特异性抗体效价受 REV 病毒血症的影响很大, 特别是在有 REV 母源抗体的 1 和 7 组, 在接种 REV 后均不会有病毒血症 (其中 1 组经测定确无 REV 病毒血症, 见表 1), 其 MDV 特异性抗体效价分别是 3.8 ± 0.8 (Log10) 和 4.2 ± 1.0 (Log10), 显著高于没有 REV 母源抗体而会产生 REV 病毒血症的 2 组和 8 组 (表 1) (p<0.01)。结果清楚地

表明, REV 感染将显著地抑制 CVI988/Rispense 免疫诱发的抗体水平。

在未经 CVI988/Rispense 免疫的鸡 (3、4、5、6 组), 分别有 REV 母源抗体 (3 组和 5 组) 或无 REV 母源抗体 (4 组和 6 组)。虽然都在 1 日龄接种了 REV, 然而 REV 病毒血症水平可能差异很大。经测定的 3 组和 4 组的结果表明, 虽然二组 REV 病毒血症水平差异很大 (133.3±326.6 PFU/ml 对 1808.3

± 1413.7 PFU/mL, 表 1), 但二组间由横向感染 MDV 诱发的特异性抗体效价无显著差异(表 2)。这表明, REV 共感染对强毒 MDV 感染诱发的抗体水平无显著影响。

2.4.2 MDV 共感染对 REV 特异性抗体的影响

从表 3 可以看出, 不论是否用 MDV 疫苗免疫及 MDV 病毒血症水平高低如何, 是否有 REV 母源抗体对 1 日龄接种 REV 诱发的 REV 特异性抗体效价影响很大, 在有 REV 母源抗体的鸡(1、3、5、7 组)的 REV 抗体分别是在的范围 $3.3 \pm 1.2(\text{Log}10) \sim 5.7 \pm 0.8(\text{Log}10)$ 内, 而没有 REV 母源抗体的鸡(2、4、6、8 组)同样接种了 REV 后在 5 周龄时的抗体则仅在 $1.7 \pm 1.9(\text{Log}10) \sim 3.3 \pm 0.8(\text{Log}10)$ 的范围。显然, 在有母源抗体时接种 REV 在体内的有限复制可

诱发较高的抗体水平, 但在无母源抗体鸡体内 REV 的大量增殖引发的免疫抑制反而显著减弱了感染引起的抗体反应。

但是, 都是在有母源抗体的情况下, 经 CVI988/Rispense 疫苗免疫从而有效预防 MDV 病毒血症的鸡(1 组和 7 组, 其中经检测的 1 组均无 MDV 病毒血症), 其 REV 抗体效价均高于未经 CVI988/Rispense 免疫因而有 MDV 病毒血症的鸡(3 组和 5 组, 表 1)的 $3.3 \pm 1.2(\text{Log}10)$ 和 $4.2 \pm 1.2(\text{Log}10)$ (表 3)。其中经 CVI988/Rispense 免疫又没有注射 MDV 强毒的 7 组(5.7 ± 0.8)又高于虽经 CVI988/Rispense 免疫但注射了强毒 MDV 的 1 组(4.5 ± 1.4)。显然, MDV 感染确实能抑制 REV 诱发的抗体效价。

表 3 不同免疫条件下 MDV 共感染对 REV 特异性抗体水平的影响 (n=6)

Table 3 Influence of REV co-infection on antibody titers to MDV in broilers with different immune statuses (n=6)

Group	Immunity state		Inoculate Virus		REV Antibody titers (Log10)
	REV-Ab	CVI988	REV	MDV	
1	+	+	+	+	4.5 ± 1.4^B
2	-	+	+	+	1.8 ± 0.8^A
3	+	-	+	contact infect	3.3 ± 1.2^A
4	-	-	+	contact infect	1.8 ± 1.5^A
5	+	-	+	+	4.2 ± 1.2^B
6	-	-	+	+	1.7 ± 1.9^A
7	+	+	+	contact infect	5.7 ± 0.8^B
8	-	+	+	contact infect	3.3 ± 0.8^A

Note is same as table 1.

3 讨论

从上世纪七十年代以来, 国内外就不断报道由于 MDV 的弱毒疫苗中污染 REV 而造成的对 MDV 免疫失败^[3-5]。近几年来, 我国鸡群中 REV 流行的报道也不断出现^[7-11]。特别是, 我们还发现, 在相当多的疑似马立克氏病肿瘤中都同时分离到 MDV 和 REV^[12-14]。因此, 有必要研究 MDV 和 REV 共感染时它们之间的相互作用。为了尽可能模仿鸡场中实际发生的情况, 在本研究的实验设计中选用了 1 日龄商品代肉鸡作为实验鸡。分别按有无 REV 母源抗体、1 日龄是否用 CVI988/Rispense 疫苗免疫或不免疫或人工接种强毒 MDV 或通过横向接触感染 MDV 等不同情况, 比较了在不同的免疫和感染状态下一种病毒感染对另一种病毒感染后的病毒血症水平及相应的抗体水平。

我们的研究已表明, REV 感染 SPF 雏鸡后会显著抑制对鸡新城疫和禽流感疫苗的抗体反应, 本实验中对 NDV 和 AIV 疫苗的抗体也将被抑制(限于篇幅, 相关内容另发文)^[18]。本研究结果表明, 在

未经免疫的鸡, REV 共感染对 MDV 病毒血症和抗体效价无显著影响。但是, REV 感染的确能显著抑制 CVI988/Rispense 疫苗对鸡的保护性免疫。REV 感染可显著抑制 CVI988/Rispense 诱发的抗体反应, 也使免疫鸡对强毒 MDV 的抵抗力显著下降(表 1 和 2), 从而促使强毒 MDV 感染后在体内的大量繁殖。这也足以解释了为什么当 REV 污染 MDV 疫苗时会造成免疫失败^[3-5], 从而致使免疫鸡群仍有大批鸡发生肿瘤和死亡。然而, REV 感染抑制 CVI988/Rispense 疫苗的免疫保护作用的机制还有待于进一步研究。

在过去几十年中, 人们都只是关注到 REV 感染对 MDV 的影响, 但很少有研究或病例报告注意 MDV 感染对 REV 致病作用的影响。在研究 REV 影响 MDV 的同时, 本研究还首先注意到, MDV 感染也会影响 REV 感染。这主要表现二方面: 一是由于 MDV 感染使具有 REV 母源抗体的雏鸡对 REV 感染不再具有完全的抵抗力, 即在有 MDV 病毒血症的情况下, 即使雏鸡带有 REV 母源抗体, 在接种 REV 后仍会在一部分鸡产生 REV 病毒血

症；另一方面是大大降低了 REV 有限感染诱发抗体的水平。总之，MDV 共感染确能显著提高雏鸡对 REV 感染的易感性。这也可解释为什么近几年来我国鸡群的肿瘤病例中有很高比例呈现着 MDV 和 REV 的共感染^[12]。同样，MDV 感染造成鸡体对 REV 免疫力下降的机制，也有待进一步研究。

在本研究中，所有 REV 母源抗体阳性鸡均是随机分组。由于对 1-2 日龄鸡采血比较困难，通常用心脏采血。为了防止心脏采血操作影响雏鸡的健康，本文未对所有鸡只测定母源抗体滴度，只是检测了种鸡群的 REV 抗体状态。

根据本研究对 MDV 和 REV 共感染时的相互作用的分析表明，这种相互作用很大程度上是通过对鸡体的免疫功能的抑制作用呈现出来的。由于这二种病毒除了引发肿瘤外，还都具有免疫抑制作用^[1, 2]，二种病毒共感染相互抑制了相应的特异性免疫，从而相互促进了病毒血症的水平，进而更加重了由此造成的免疫抑制及每个病毒各自引起的特异性致病作用。

Reference

- [1] Witter R L, Schat K A, Marek's disease [A]. Saif Y M. Diseases of Poultry [C]. 11th ed, USA, Iowa State University, p407-464, 2003.
- [2] Witter R L, Fadly A M. Reticuloendotheliosis [A]. Saif Y M. Diseases of Poultry [C]. 11th ed, USA, Iowa State University, p517-535, 2003.
- [3] Yuasa N, Yoshida I, Taniguchi T. Isolation of a reticuloendotheliosis virus from chickens inoculated with Marek's disease vaccine [J]. Natl Inst Anim Health Q, 1976, 16:141-151.
- [4] Jackson C A W, Dunn S E, Smith D I. Proventriculitis, "Nakanuke" and reticuloendotheliosis in chickens following vaccination with herpesvirus of turkeys (HVT) [J]. Aust Vet J, 1977, 53: 457-458.
- [5] Bagust T J, Grimes T M, Dennett D P. Infection studies on a reticuloendotheliosis virus contaminant of a commercial Marek's disease vaccine [J]. Aust Vet J, 1979, 55:153-157.
- [6] Fadly A M, Witter R L, Smith E J. An outbreak of lymphomas in commercial broiler chickens vaccinated with a fowlpox vaccine contaminated with reticuloendotheliosis virus [J]. Avian Pathol, 1996, 25: 35-47.
- [7] Cui Z Z, Zhu C R, Sun H C. (崔治中, 朱承如, 孙怀昌) *et al.* The survey of Avian Iekosis virus and Reticuloendotheliosis Virus Infection circs [J]. Chin J Anim Poul Infec Dis (中国畜禽传染病), 1987, 1: 37-38.
- [8] He H H, Chen F Y, Cai B X, (何宏虎, 陈溥言, 蔡宝祥) *et al.* The separation and identification of Reticuloendotheliosis Virus [J]. Chin J Anim Poul Infec Dis (中国畜禽传染病), 1988, 2: 1-3.
- [9] He Y Q, ZHANG Z Z, Yang H C, (何勇群, 张中直, 杨汉春) *et al.* A Serological survey of the Reticuloendotheliosis virus infection in Beijing chicken flocks [J]. Acta Veter Zootech Sinica (畜牧兽医学报), 1998, 29 (1): 71 - 78.
- [10] Du Y Z, Wu Y G, Zhu W G, (杜元钊, 吴延功, 朱万光) *et al.* A Reticuloendotheliosis Virus Isolated from Transmissible Proventriculitis in Chickens [J]. Chin J Veter Sci (中国兽医学报), 1999, 19: 434-436.
- [11] Cui Z Z, Du Y, Zhao W M, (崔治中, 杜岩, 赵文明) *et al.* Reticuloendotheliosis Virus Infection and Immunodepression of Chicken Flocks [J]. Chin J Veter Drug (中国兽药杂志), 2000, 34: (1)1-3.
- [12] Zhang Z, Cui Z Z, Jiang S J, (张志, 崔治中, 姜世金) *et al.* Dual-infection of Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus from tumors in chickens [J]. Chin J Prevent Veter Med (中国预防兽医学报), 2003, 25 (4): 275-278.
- [13] Bandyopadhyay P L, Temin H M. Expression from an internal AUG codon of herpes simplex thymidine kinase gene inserted in a retrovirus vector [J]. Mol Cell Biol, 1984, 4: 743-748.
- [14] Zhang Z, Zhang G Q, Sun S H, (张志, 庄国庆, 孙淑红). Pathogenesis of Co-infection on Broiler Chicken by Marek's Disease Virus and Reticuloendotheliosis Virus [J]. Acta Veter Zootech Sinica (畜牧兽医学报), 2005, 36: 62-65.
- [15] Reddy S M, Lupiani B, Gimeno I M, *et al.* Rescue of a Marek's disease virus with overlapping Cosmid DNAs: use of a pp³⁸ mutant to validate the technology for the study of gene function [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 7054-7059.
- [16] Lee L F, Liu X, Witter R L. Monoclonal antibodies with specificity for three different serotypes of Marek's disease viruses in chickens [J]. J Immunol, 1983, 130: 1003-1006.
- [17] Cui Z Z, Lee L F, Silva R F, *et al.* Monoclonal antibodies against avian reticuloendotheliosis virus: identification of strain-specific and strain-common epitopes [J]. J Immunol, 1986, 136: 4237-4242.
- [18] Sun S H, Cui Z Z (孙淑红, 崔治中). Immuno-Suppression of Reticuloendotheliosis Virus Infection on Antibody Responses to Different Vaccines in SPF chickens [J]. Virologica Sinica (中国病毒学), 2006, 21(1): 34-37.