

鸡痘病毒整合禽网状内皮组织增生病毒基因的分子生物学鉴定及致病机理研究

王 刚, 孙洪磊, 于 颖, 吴玉宝, 娄本红, 刘思当

(山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271018)

摘要: 【目的】验证 FPV 野毒株是否存在 REV 基因整合现象, 初步研究整合毒株致病鸡群 REV 的抗体变化规律、FPV 感染组织细胞的病变及发病鸡的病理组织学变化特征。【方法】自泰安及周边地区搜集的 9 例典型 FP 临床病例取其病变组织分离 FPV, 电镜观察 FPV 形态特征、PCR 扩增 REV-env 和 LTR 序列、ELISA 检测 FP 发病鸡群血清 REV 抗体变化特征及病理组织学检查病鸡的病理学变化。【结果】9 株 FPV 野毒株均有 REV 基因片段的整合, 整合毒株使感染组织细胞的核由原来紧密球状变成较松散的螺旋状; FP 患病鸡 REV 抗体阳性率显著升高; 发病鸡除 FP 的一般病变外, 同时显示脾脏、胸腺、法氏囊等免疫器官的淋巴组织严重萎缩, 网状内皮细胞增生; 肝脏、十二指肠、肺脏等器官内的淋巴组织亦表现相应的病理变化; 用分离纯化整合 REV 基因的 FPV 毒株对 SPF 鸡试验性感染表明: 整合 REV 基因的 FPV 毒株试验性感染 SPF 鸡患痘后期 REV 抗体水平的变化及组织器官的病理变化与野毒株 FPV 自然感染鸡所致病变相同。【结论】泰安及周边地区流行的 FPV 野毒株普遍存在 REV 基因的整合现象, 整合有 REV 基因的 FPV 野毒株的致病性已发生改变, 具有 REV 的某些致病特征。

关键词: 鸡痘病毒; 网状内皮组织增生病毒; 基因整合; 病理变化; 致病性

Identification of Fowlpox Virus (FPV) Integrated with Reticuloendotheliosis Virus (REV) Gene and Study on Pathology of Chickens Infected with REV-Integrated FPV

WANG Gang, SUN Hong-lei, YU Ying, WU Yu-bao, LOU Ben-hong, LIU Si-dang

(College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong)

Abstract: 【Objective】 To examine the integration of reticuloendotheliosis virus (REV) gene in FPV genome, and to study on the changes of the specific antibody against REV in FP flocks, the cytopathic effect in tissue cells infected by FPV and the histopathological changes in FP chickens. 【Method】 Fowlpox viruses (FPV) were isolated from 9 typical fowlpox (FP) clinical cases identified in Taian and surrounding areas, using PCR to amplify REV-env, LTR sequence, ELISA to test the changes of the specific antibody against REV in FP flocks, electron microscopy to observe the morphous of FPV, and histopathological examination of FP chickens. 【Result】 The results showed that all of the 9 FPV isolates were integrated with REV gene, the tight sphere of the nucleus in infected tissue cells transformed into helix pattern, antibody levels against REV in FP chickens increased significantly. Besides the common pathological changes caused by FP, severe atrophy of spleen, thymus, Bursa, reticuloendothelial cell proliferation, pathologic changes of liver, duodenum and lung were also found. The results of SPF chickens experimental infection by separated and purified FPV showed that the changes of antibody against REV and pathological changes of organs during the healing stage were identified as the changes caused by wild virus. 【Conclusion】 In summary, integration of FPV with REV gene is common in chickens from Taian and surrounding areas, and the pathogenicity of the wild FPV strains integrated with REV gene has changed to some extent.

收稿日期: 2008-11-24; 接受日期: 2009-06-11

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (31364)、山东农业大学博士基金项目

作者简介: 王 刚 (1981—), 男, 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向为动物临床病理学。E-mail: wg0381@163.com。通信作者刘思当 (1961—), 男, 山东泰安人, 教授, 博士, 研究方向为动物临床病理学。Tel: 0538-8249526; E-mail: liusid@sdau.edu.cn

Key words: fowlpox virus; reticuloendotheliosis virus; gene integration; pathological changes; pathogenicity

0 引言

【研究意义】近年来,鸡痘(fowlpox, FP)的发生率及发病鸡死亡率不断增加^[1],鸡痘疫苗免疫失败屡见不鲜。同时,临床上还出现了以结膜炎、鼻炎为特征的眼鼻型和以内脏点状痘斑为特征的内脏型鸡痘;关于患痘鸡群易发生腺胃炎及免疫抑制的现象屡见报道^[2-3]。此现象是否与禽网状内皮组织增生病毒(reticuloendotheliosis virus, REV)基因片段或 REV 全基因整合进鸡痘病毒(fowlpox virus, FPV)有关已成为许多研究学者关注的焦点,而由此引起的新的致病特点及发病机制已成为当前 FP 研究的热点问题之一。【前人研究进展】国外已有越来越多的关于 REV 污染禽痘疫苗及 REV 基因片段整合进 FPV 基因组中的报道^[4-9],中国的研究者也发现不仅分离的野毒株中含有 REV 的前病毒基因序列,而且国产疫苗当中也整合有 REV 的 LTR 序列^[10-11]。【本研究切入点】尽管越来越多的人倾向于鸡痘的高发率、鸡痘疫苗的免疫失败及患痘鸡的后续病症可能与 REV 基因整合进 FPV 有关,但整合 REV 基因的 FPV 的毒力是否因此改变,感染整合 REV 基因的 FPV 鸡的病理变化有何新特点,目前尚未见相关的研究报道。【拟解决的关键问题】进一步验证泰安及周边地区鸡痘流行毒株的 REV 基因片段整合情况,初步探讨整合 REV 基因的 FPV 对鸡致病性的改变及致病机制。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

REV 抗体检测试剂盒购自北京 IDEXX 公司;用于接毒的 SPF 鸡胚购自济南斯帕法斯公司;dNTP, Marker DL2000, TaqDNA 聚合酶、限制性内切酶 *Sal* I, *Eco*R I, X-gal 及 IPTG 等均购自大连 TaKaRa 公司;其它试剂按常规方法配制;PCR 引物合成和 PCR 产物的序列测定由北京博尚公司完成。

1.2 试验方法

1.2.1 临床症状及大体病变的观察 对发病鸡群进行动态观察,将病死鸡进行外部检查、剖检,仔细观察大体病变。

1.2.2 ELISA 检测血清 REV 抗体 对 11 个发病鸡场部分痘疹明显的发病鸡翅静脉采血,同时对同群未发病部分鸡翅静脉采血作为对照,发病期和愈合后 1 周

内各采血 1 次(两次采血间隔期为 1 个月左右),ELISA 检测血清 REV 抗体。抗体检测严格按试剂盒说明书操作。

1.2.3 鸡痘病毒粒子的电镜观察 自病鸡取适宜大小的新鲜痘疹组织,选择 1% 饿酸固定后,分别依次置于 30%、50%、70%、90%、100% 丙酮液进行梯度脱水,环氧树脂渗透包埋,烘干制作超薄切片,染色,于透射电镜下观察。

1.2.4 鸡痘病毒的分离 挑选 9 个发病严重的鸡场病鸡的适量痘疹组织加入 pH 7.2 的 PBS 研磨后,加适量 RNA 酶,置 37℃ 水浴锅孵育 45 min 后,反复冻融 3 次,5 000 r/min 离心 10 min,取上清过滤后,接种 11~12 日龄的 SPF 鸡胚绒毛尿囊膜,37℃ 孵化 5~7 d,将感染的绒毛尿囊膜无菌取出,加入灭菌 pH 7.2 的 PBS 研磨,离心取上清,按此方法连续接种适龄鸡胚绒毛尿囊膜至出现明显的白色隆起的大型痘斑为止。然后分别取 1 ml 含痘斑绒毛尿囊膜组织上清接种于已长满 70%~90% 的鸡胚成纤维细胞(CEF)单层上。于 5% CO₂ 37℃ 培养箱培养。出现细胞病变时,PBS 洗一次,0.25% 胰酶消化,收获的部分细胞提取细胞 DNA 进行 PCR;剩余部分-80℃ 反复冻融 3 次,5 000 r/min,4℃ 离心 20 min,取上清,将上清液 30 000 r/min,4℃ 离心 60 min,弃上清,用 1 ml PBS 悬浮沉淀,后经 20%~60% 蔗糖密度梯度离心,吸取病毒带,适量 PBS 溶解,-80℃ 冰箱保存备用。

1.2.5 PCR 扩增 env、FPV-LTR 序列 分别用病变细胞 DNA 为模板,参照文献[10,12-13],合成一对引物用于扩增 REV 的 env 基因片段,同时合成这对引物的 nest-PCR 引物,引物的序列见表 1,PCR 反应程序:95℃ 4 min,95℃ 30 s,54℃ 30 s,72℃ 30 s,28 个循环,72℃ 10 min。参照 FPV 基因组序列(GenBank 序列号,NC-002188)及文献[11,14-15]已经发表的整合序列,合成一对来自于 FPV,用于扩增 LTR 的引物,引物序列见表 1,PCR 反应程序:95℃ 5 min,95℃ 30 s,52℃ 1 min,72℃ 1 min,进行 30 个循环,72℃ 10 min。PCR 产物经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳观察。

1.2.6 重组质粒的构建及阳性克隆筛选鉴定 将鸡痘分离毒株整合基因片段的 PCR 产物用凝胶回收纯化试剂盒回收所需片段,连接于 pMD-18-T 载体。将连接产物分别转化 *E.coli* TG1 大肠杆菌感受态细胞,接种含 IPTG 和 X-gal 的固体 LB 培养基,挑选白色菌

表 1 用于扩增 REV-env、FPV-LTR 基因片段的 PCR 引物

Table 1 Primers for env and LTR fragment of REV

引物 Primers	序列 Sequences	位置 Positions in REV/FPV genome	长度 Fragment sizes (bp)
Fenv(forward)	5'-AGCTAGGCTCGTATGAA-3'	6504~6520(REV)	438
Renv(reverse)	5'-TATTGACCAGGTGGGTTG-3'	6940~6923	
Fenv-nest(forward)	5'-ATGAAGACGGGCCTAA-3'	6515~6531(REV)	402
Renv-nest(reverse)	5'-AAAGGGGAGGCTAAGA-3'	6916~6910	
FFPV-LTR(forward)	5'-AACAAATGATACGTCTCTCC-3'	232404~232423(FPV)	-
RFPV-LTR(reverse)	5'-CACACGAATATACCAATAAGG-3'	232888~232868	

落接种含 Amp+LB 液体培养基, 提取质粒, 经 *EcoR* I 和 *Sal* I 双酶切, 筛选阳性克隆。DNA 序列测定, 以确定基因序列的整合情况。

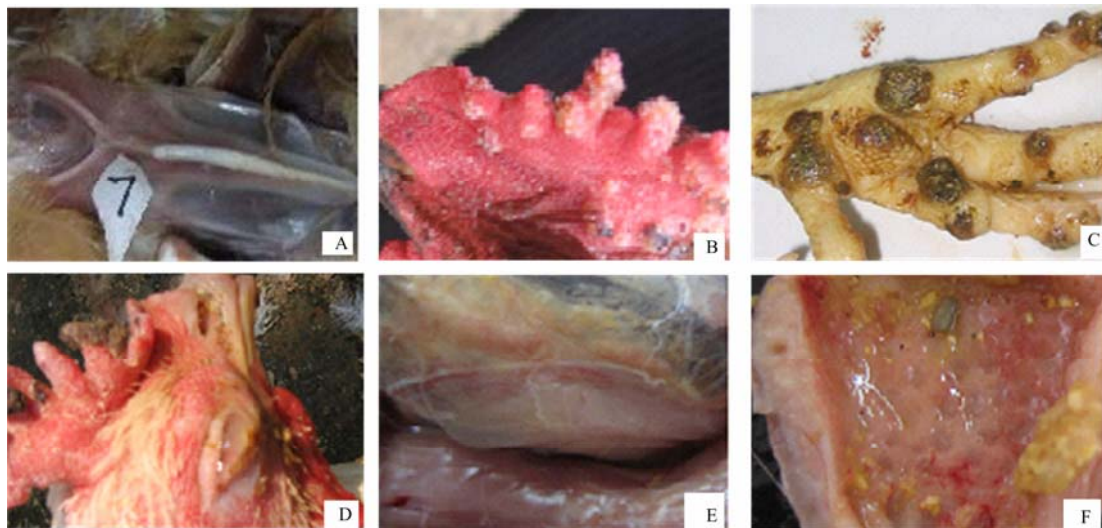
1.2.7 病理组织学观察 取脾、腺胃、胸腺、法氏囊、肺、心、肝、肾、十二指肠和胰腺等组织于 10% 福尔马林液固定, 石蜡切片, H.E 染色, 光镜观察。

1.2.8 分离纯化毒株整合 REV 基因的 FPV 毒株对 SPF 鸡感染试验 饲养 SPF 鸡 20 只至 15 日龄, 随机分为两组: 一组 15 只, 接种适量蔗糖密度梯度离心纯化的整合 REV 基因的 FPV; 另一组 5 只, 接种等量生理盐水作为对照。分别在接毒前、接毒后 15、30 d 采血检测 REV 抗体水平; 接毒后 30 d 屠宰所有试验鸡, 取脾、腺胃、胸腺、法氏囊、肺、心、肝、肾、十二指肠和胰腺等组织于 10% 福尔马林液固定, 石蜡切片, H.E 染色, 光镜观察。

2 结果与分析

2.1 临床症状及剖检病变

11 个发病鸡群分布于山东的泰安及周边地市, 均为 30~70 日龄之间的育成蛋鸡和肉用麻鸡, 发病鸡临床症状: 病鸡精神沉郁, 采食、饮水量均下降, 病程一般持续 20 d 左右, 病程稍长者, 病鸡极度消瘦 (图 1-A), 脱水; 病鸡的痘疹多少及发生部位不定, 主要见于无毛或少毛部位的皮肤 (8/11) (图 1-B、C); 有的病鸡呼吸困难, 眼有脓性分泌物将上下眼睑粘连 (4/11) (图 1-D), 继发眼结膜炎的发病鸡群死亡率较高, 达 10% 左右 (3/11)。剖检变化: 胸腺、脾脏、法氏囊萎缩 (10/11) (图 1-E); 个别病鸡腺胃肿胀, 质地变硬 (1/11) (图 1-F); 心脏扩张, 变软; 肺淤血变硬, 切面流出带泡沫的血液; 整个肠道有不



A: 病鸡消瘦; B: 冠部痘疹; C: 爪部痘疹; D: 混合型鸡痘; E: 胸腺萎缩; F: 腺胃肿胀
A: FP chicken is thin; B, C, D: The pox on different parts of chicken; E: Atrophy of thymus; F: Glandular stomach swelling

图 1 病鸡临床症状及眼观病变

Fig. 1 Clinical symptoms and pathological anatomy

同程度的炎症变化,有的出血;盲肠、扁桃体出血;肾脏、肌胃未见明显病变,病鸡后期常见肝周炎、心包炎(4/11)为特征的大肠杆菌继发感染性病变。

2.2 血清 REV 的抗体检测

依据试剂盒说明书的判定标准,11个鸡群均呈现不同程度的血清 REV 抗体阳性,其中发病期血清样品 REV 抗体阳性率为 25%;痊愈后血清样品 REV 抗体阳性率为 74%。FP 发病期同群无痘疹健康对照鸡血清

REV 抗体阳性率为 21%;痊愈后血清 REV 抗体阳性率为 34%。采血鸡群中血清 REV 抗体阳性鸡的数量与采血鸡数量的比例见表 2。

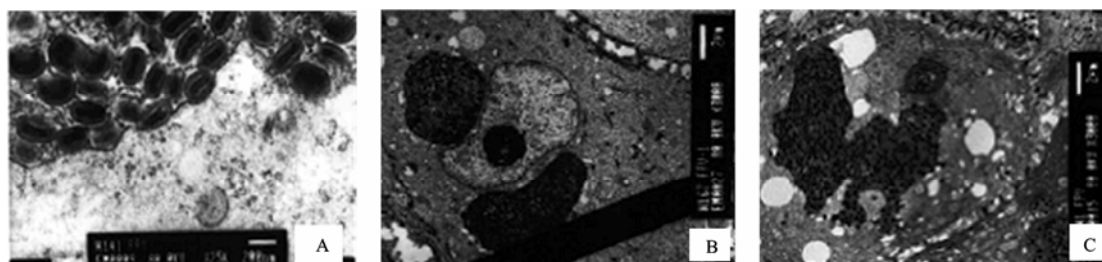
2.3 鸡痘病毒的形态及感染细胞的病理学变化

电镜观察显示,鸡痘病毒粒子呈椭圆形(图 2-A),大小为 250 nm×354 nm,表面呈桑椹样。在感染细胞的胞浆内看到包涵体(图 2-B),部分含包涵体的细胞核呈螺旋状病变(图 2-C)。

表 2 REV 抗体阳性鸡在采血鸡群中的比例

Table 2 The rate of positive antibody against REV in FP chickens

采血时期 Get blood period	FP 发病鸡 FP chickens	正常鸡 Normal chickens
发病前期血清 REV 抗体阳性鸡比例 The ratio of serum positive antibody against REV in initial FP stage	30/119	12/58
痊愈后血清 REV 抗体阳性鸡比例 The ratio of serum positive antibody against REV in the healing stage	88/119	20/58



A: 鸡痘粒子(×25K); B: 鸡痘包涵体(×3000); C: 病变细胞核(×3000)
A: Fowlpox virus (×25K); B: Cytotryctes of fowlpox virus (×3000); C: The nucleus in infected cell (×3000)

图 2 鸡痘病料电镜观察

Fig. 2 Electron microscopy

2.4 FPV 中 REV 基因组的检测

以病变细胞的核酸提取物为模板,PCR 循环后,所有样品的 REV-env 全为阴性;以所有样品的 env 基因的 PCR 产物作为模板,用相应的 nest-PCR 引物进行同一程序的 PCR 反应,结果所有样品的 REV-env 基因均为强阳性(图 3 左)。以 FPV-LTR 引物进行 PCR,结果所有样品的 FPV-LTR 均在 500 bp 左右出现强阳性条带(图 3 右)。将上述 PCR 产物克隆进 pMD-18-T 载体,将经过 EcoR I 和 Sal I 双酶切的阳性克隆产物进行琼脂糖凝胶电泳,结果表明插入载体的片段与 PCR 扩增产物大小一致。

2.5 病理组织学观察

2.5.1 脾脏 骨髓数量少,体积较小(图 4-A),骨髓区淋巴细胞疏松,有的见有许多核浓缩深染的淋巴

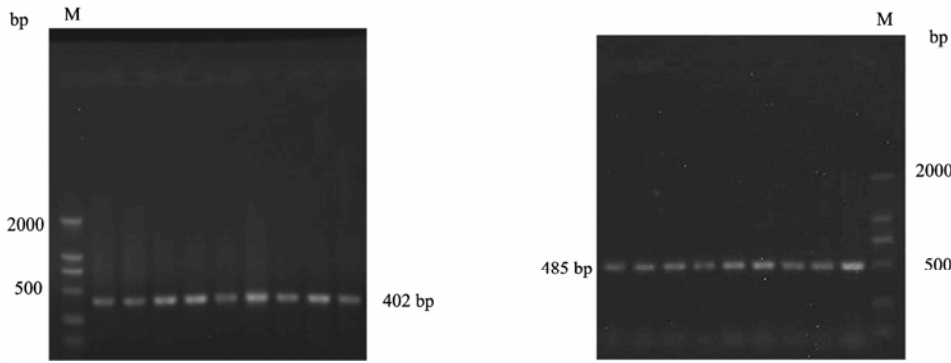
细胞(图 4-B)。

2.5.2 法氏囊 淋巴滤泡明显减少,黏膜出现大量皱褶(图 4-C);皮质区淋巴细胞消失,皮质结构不明显;髓质区淋巴细胞严重缺失、坏死,有的滤泡呈现空泡化(图 4-D);间质结缔组织增生。

2.5.3 胸腺 严重萎缩,皮质、髓质结构不明显(图 4-E);皮质淋巴细胞严重缺失、网状内皮细胞增生;髓质内只有少量淋巴细胞。

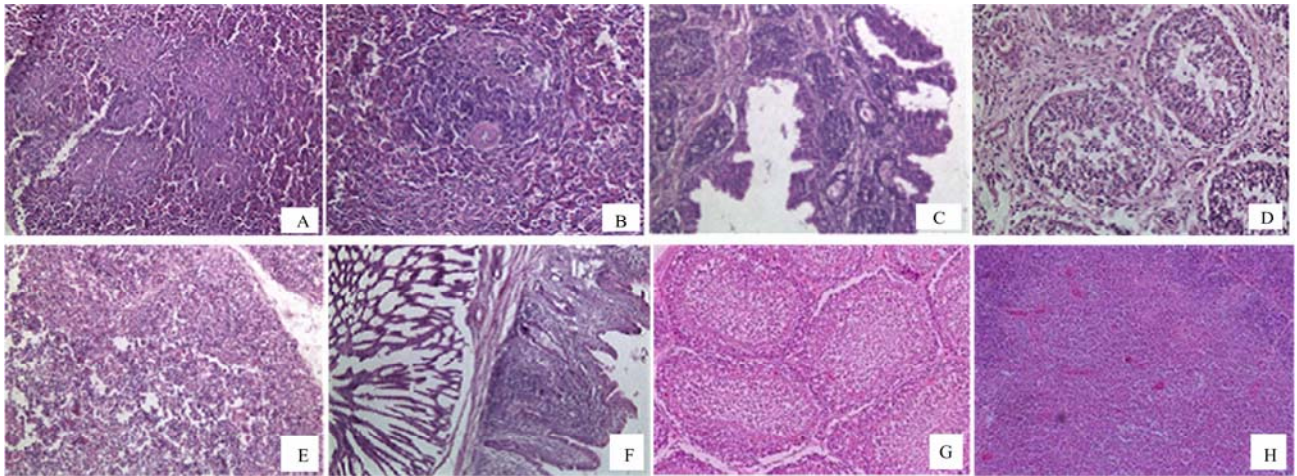
2.5.4 肺脏 多见充血;支气管黏膜上皮细胞层杯状细胞增多,固有层内嗜嗜性粒细胞浸润;间质动脉充血、水肿,有少量嗜嗜性粒细胞浸润。

2.5.5 腺胃 一般无明显的病理变化,个别病例腺胃黏膜固有层大量淋巴细胞浸润、增生(图 4-F),腺体内亦见淋巴细胞灶状增生,腺腔内充满坏死的腺上



左：PCR 扩增 FPV 上的 REV env 序列；右：PCR 扩增 FPV 上的 REV LTR 整合区序列
 Left: PCR products of integrated REV env; Right: PCR products of integrated REV LTR with flanking FPV sequences; M: DL2000 marker

图 3 PCR 扩增产物
 Fig. 3 PCR products



A: 脾脏缺乏白髓结构(H.E×200); B: 脾脏白髓区内可见核浓缩深染的淋巴细胞(H.E×400); C: 法氏囊淋巴滤泡萎缩, 黏膜出现大量皱褶(H.E×200); D: 法氏囊淋巴细胞坏死(H.E×400); E: 胸腺严重萎缩, 皮、髓质结构不明显, (H.E×200); F: 腺胃黏膜固有层大量淋巴细胞浸润、增生(H.E×200); G: 正常对照, 法氏囊(H.E×200); H: 正常对照, 胸腺(H.E×200)
 A: Spleen lack of white pulp structure (H.E×200); B: Lymphocytes which nuclear concentrated and anachromasis can be seen in the splenic white pulp region (H.E×400); C: Atrophy of folliculus lymphaticus of Bursa (H.E×200); D: Necrosis of folliculus lymphaticus of Bursa (H.E×400); E: Atrophy of thymus, cortex, medulla structure was not obvious (H.E×200); F: A large number of lymphocytes which lie in glandular stomach mucosa lamina propria infiltration and proliferation (H.E×200); G: Control Bursa (H.E×200); H: Control thymus (H.E×200)

图 4 器官病变的病理组织学检测
 Fig. 4 Pathological changes of organs

皮细胞及分泌的黏液。

2.5.6 肝脏 部分病例肝脏淤血；肝细胞灶状坏死，网状内皮细胞浸润增生；汇管区内有较多淋巴细胞、异嗜性粒细胞浸润增生。

2.5.7 十二指肠 部分鸡肠黏膜上皮细胞脱落，固有层淋巴细胞坏死、充血、水肿。

2.5.8 心肌 部分病例心肌细胞灶状坏死，大量巨噬细胞、淋巴细胞浸润增生。

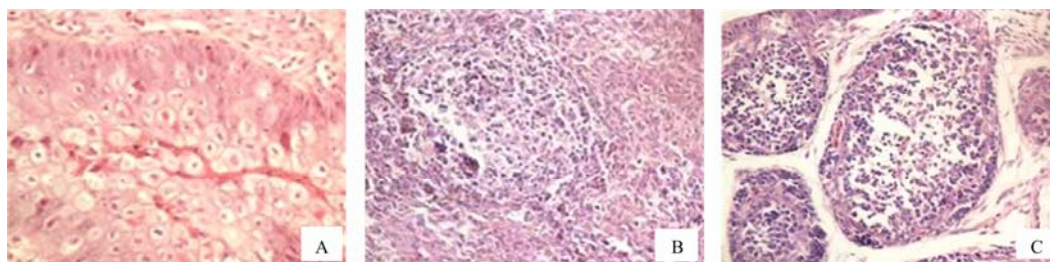
2.5.9 其它 脑、肾、胰腺等器官未见明显的病理变化，同群的健康对照组未见明显病理变化(图 4-G、H)。

2.6 分离纯化毒株对SPF鸡感染试验

15只感染整合有REV基因的FPV的SPF鸡REV抗

体水平升高时期集中在攻毒后的15~30 d, REV抗体阳性鸡的数量见表3。该15只鸡在攻毒后30 d的病理组织学变化与临床自然感染鸡相同, 主要集中在免疫器

官(脾脏、胸腺、法氏囊)萎缩及其它组织器官淋巴细胞浸润增生(图5), 对照组正常。



A: 鸡痘包涵体 (H.E×400); B: 脾脏淋巴细胞稀疏, 淋巴细胞核浓缩深染 (H.E×400); C: 法氏囊淋巴滤泡萎缩, 淋巴细胞稀疏 (H.E×400)
A: Cytotocytes of fowlpox virus (H.E×400); B: Sparse lymphocytes which nuclear concentrated and anachromasis in spleen (H.E×400); C: Atrophy of folliculus lymphaticus sparse lymphocytes in Bursa (H.E×400)

图 5 试验鸡器官病变的病理组织学检测

Fig. 5 Pathological changes of organs

表 3 REV 抗体阳性鸡在试验鸡群中的比例

Table 3 The rate of positive antibody against REV in FPV chickens

采血时期 Get blood period	FPV 攻毒鸡 FPV chickens	对照鸡 Control chickens
攻毒前血清REV抗体阳性鸡比例 The ratio of serum positive antibody against REV before FPV-infected chickens	0/15	0/5
攻毒后15 d血清REV抗体阳性鸡比例 The ratio of serum positive antibody against REV in FPV-infected chickens at days 15	2/15	0/5
攻毒后30 d血清REV抗体阳性鸡比例 The ratio of serum positive antibody against REV in FPV-infected chickens at days 30	11/15	0/5

3 讨论

本研究为了避免病料本身携带 REV 游离病毒粒子而导致 PCR 假阳性出现, 参照文献[3], 笔者在鸡痘病毒接种适龄鸡胚尿囊膜之前都加入了适量的 RNA 酶并经过 37℃ 水浴 45 min。由于 REV 对热的抵抗力相当弱, 所以这样就可以将有感染性的 REV 病毒粒子灭活, 通过 SPF 鸡胚尿囊膜接毒传代, 排除假阳性干扰。

Hertig 等^[14]首先发现, 不仅传染性 REV 病毒粒子可以直接污染某些鸡胚或鸡细胞来源的弱毒疫苗, 而且一株商品化的 FPV 疫苗病毒基因组中已整合进 REV 的全基因组, 而且从这株 FPV 疫苗毒株还能产生有传染性的 REV。这一发现使许多实验室都开始关注 FPV 的疫苗株和野毒株中 REV 基因组的整合问题^[15-18]。

本研究发现, 在山东泰安及周边地区分离的 FPV 野毒株中有 REV 基因整合的现象是普遍存在的。FP 痊愈后的鸡群, REV 血清学检测结果显示抗体阳性率显著升高, 由于 REV 横向感染率很低, 由此推测: FPV 中整合的 REV 基因组是否可在适当的时候转录转染的 REV 或表达 REV 相关的抗原成分。病理组织学变化检测表明, 患 FP 的病鸡均具有免疫器官(脾脏、胸腺、法氏囊)的实质细胞坏死、缺失, 网状内皮细胞增生等病理学变化, 此病变与 REV 感染所致病变^[19]相似, 这亦进一步提示人们要对 FPV 中整合 REV 基因组的潜在危险应高度重视。免疫器官的萎缩必然导致机体的免疫抵抗力的降低, 这不仅显著影响了患鸡对烈性传染病疫苗的免疫效力, 还能直接诱发某些病毒或细菌的继发感染。所以, 患过 FP 的鸡群时有疫苗免疫失败以及非典型新城疫、腺胃炎、大肠杆菌病等爆发流行, 死淘率显著升高。

电镜观察显示 FPV 粒子形态和在感染细胞内形成的包涵体与报道^[20]相符, 与以前报道不同的是, 此次观察发现 FPV 侵害细胞的胞核常表现以前未曾发现的某些病变特征, 这是否与 FPV 致病性增强有关, 值得关注。

REV 对外界的抵抗力相当弱, 脱离鸡体后, 在外界存活的时间很短, 所以该病毒粒子通过空气在鸡群间横向传播的几率不大, 该病主要通过媒介传播, 吸血昆虫的机械传播为多数研究人员所认可, REV 通过与其它病毒的整合亦得以传播, 该现象正逐渐浮出水面。REV 属 C 型反转录病毒, 基因序列与哺乳动物反转录病毒很接近^[21-22], 所以其基因组的复制必须经过与宿主细胞染色体 DNA 结合, 并成为其染色体的一部分, 即整合入宿主细胞 DNA^[17], 该特点为其通过整合传播提供了有利条件。本试验初步证实 REV 前病毒基因组整合进 FPV 基因组会明显改变 FPV 的致病特性, 并表现某些 REV 的病变特征, 进一步验证了 FPV 中整合 REV 基因组对养鸡业造成潜在危害^[14]的推测, 这也意味着, REV 本身存在着另一种自然传播途径, 即整合有完整 REV 的 FPV 也能传播 REV^[23]。

用分离纯化的整合 REN 基因的 FPV 毒株对 SPF 鸡试验性感染表明, 患痘鸡后期出现的 REV 抗体水平阳性变化及组织器官的病变与 REV 感染类似, 进一步验证了整合 REV 基因的 FPV 野毒株在 REV 传播中的重要性。

4 结论

山东泰安及周边地区流行的 FPV 野毒株普遍存在 REV 基因的整合现象, 整合有 REV 基因的 FPV 野毒株的致病性已发生改变, 具有 REV 的某些致病特征。

Reference

- [1] Moore K M, Davis J R, Sato T, Yasuda A. Reticuloendotheliosis virus (REV) long terminal repeats incorporated in the genomes of commercial fowl poxvirus vaccines and pigeon poxviruses without indication of the presence of infectious REV. *Avian Disease*, 2000, 44(4): 827-841.
- [2] 陈 静, 张 志, 杜元钊, 刘秀梵. 我国鸡痘病毒野毒重组株的流行初探. *中国兽医学报*, 2008, 28(4): 371-374.
Chen J, Zhang Z, Du Y Z, Liu X F. Preliminary research of integrated fowl poxvirus strains in field in China. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2008, 28(4): 371-374. (in Chinese)
- [3] 陈 静. 禽痘病毒基因组中整合有禽网状内皮组织增生病毒序列的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2006.
Chen J. Reticuloendotheliosis virus sequence integrated into the fowlpox virus genomes of field strain and vaccine strain[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2006. (in Chinese)
- [4] Singh P, Kim T J, Tripathy D N. Re-emerging fowlpox: evaluation of isolates from vaccinated flocks. *Avian Pathology*, 2000, 9(5): 449-455.
- [5] Wang J, Meers J, Spradbrow P B, Robinson W F. Evaluation of immune effects of fowlpox vaccine strains and field isolates. *Veterinary Microbiology*, 2006, 25; 116(1/3): 106-119.
- [6] Tadese T, Reed W M. Detection of specific reticuloendotheliosis virus sequence and protein from REV-integrated fowlpox virus strains. *Journal of Virological Methods*, 2003, 110: 99-104.
- [7] Singh P, Schnitzlein W M, Tripathy D N. Construction and characterization of a fowlpox virus field isolate whose genome lacks reticuloendotheliosis provirus nucleotide sequences. *Avian Diseases*, 2005, 49(3): 401-408.
- [8] Tadese T, Fitzgerald S, Reed W M. Detection and differentiation of re-emerging fowlpox virus (FWPV) strains carrying integrated reticuloendotheliosis virus (FWPV-REV) by real-time PCR. *Veterinary Microbiology*, 2008, 127: 39-49.
- [9] Fadly A, Garcia M C. Detection of reticuloendotheliosis virus in live virus vaccines of poultry. *Developments in Biologicals*, 2006, 126: 301-305.
- [10] 丁家波, 崔治中, 于立娟, 孙淑红, 姜氏金. 含有禽网状内皮组织增生病毒基因组片断天然重组禽痘病毒的研究. *微生物学报*, 2004, 44(5): 588-592.
Ding J B, Cui Z Z, Yu L J, Sun S H, Jiang S J. Detection of Reticuloendotheliosis virus genomic sequence in the genome of field and vaccine strains of fowl poxvirus. *Acta Microbiologica Sinica*, 2004, 44(5): 588-592. (in Chinese)
- [11] 于立娟, 崔治中. 禽痘疫苗病毒中网状内皮组织增生病毒 5'LTR 整合位点序列分析. *微生物学报*, 2006, 46(4): 660-662.
Yu L J, Cui Z Z. Sequence analysis of integration sites of reticuloendotheliosis virus LTR in fowlpox vaccine virus genomes. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46 (4): 660-662. (in Chinese)
- [12] 吉 荣, 刘岳龙, 秦爱建, 丁家波, 金文杰, 赵文明, 崔治中, 段素华, 高海萍, 韩方伟. 免疫抑制鸡群传染性贫血病毒和网状内皮增生病毒共感染检测. *中国兽药杂志*, 2001, 35(4): 1-3.
Ji R, Liu Y L, Qin A J, Ding J B, Jin W J, Zhao W M, Cui Z Z, Duan S H, Gao H P, Han F W. Co-infection detection of the chicken infectious anemia virus and reticuloendotheliosis virus in the immunodepression flock. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*,

- 2001, 35(4): 1-3. (in Chinese)
- [13] 赵文明, 丁家波, 崔治中. 网状内皮组织增殖病病毒(REV)不同分离株 LTR 基因的序列分析. 上海交通大学学报(农业科学版), 2001, 19(1): 13-15.
- Zhao W M, Ding J B, Cui Z Z. Sequence analysis of long terminal repeats (LTR) gene of REV between different isolated strains. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2001, 19(1): 13-15. (in Chinese)
- [14] Hertig C, Coupar B E, Gould A R, Boyle D B. Field and vaccine strains of fowlpox virus carry integrated sequences from the avian retrovirus, reticuloendotheliosis virus. *Virology*, 1997, 235(2): 367-376.
- [15] Garcia M, Narang N, Reed W M, Fadly A M. Molecular characterization of reticuloendotheliosis virus insertions in the genome of field and vaccine strains of fowl poxvirus. *Avian Diseases*, 2003, 47(2): 343-354.
- [16] Diallo I S, Mackenzie M A, Spradbrow P B, Robinson W F. Field isolates of fowlpox virus contaminated with reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathology*, 1998, 27(1): 60-66.
- [17] Singh P, Schnitzlein W M, Tripathy D N. Reticuloendotheliosis virus sequences within the genomes of field strains of fowlpox virus display variability. *Journal of Virology*, 2003, 77(10): 5855-5862.
- [18] Kim T J, Tripathy D N. Reticuloendotheliosis virus integration in the fowl poxvirus genome: not a recent event. *Avian Diseases*, 2001, 45(3): 663-669.
- [19] 刘思当, 商营利, 赵德明. 鸡 J 亚群白血病病毒与网状内皮增殖病病毒混合感染发病机理的研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 2005, 36(2): 225-231.
- Liu S D, Shang Y L, Zhao D M. Study on the pathogenesis of broilefts coinected with avian leukosis virus subgroup J and reticuloendotheliosis virus. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2005, 36 (2): 225-231. (in Chinese)
- [20] Saif Y M. 禽病学(第 11 版). 北京: 农业出版社, 2005: 274-295.
- Saif Y M. *Avian Disease (11th Edition)*. Beijing: Agriculture Press, 2005: 274-295. (in Chinese)
- [21] Tsai W P, Copeland T D, Oroszlan S. Purification and chemical and immunological characterization of avian reticuloendotheliosis virus gag-gene-encoded structural proteins. *Virology*, 1985, 140: 289-312.
- [22] Lovinger G G, Mark G, Todaro G J, Schochetman G. 5'-terminal nucleotide noncoding sequences of retroviruses: relatedness of two old world primate type C viruses and avian spleen necrosis virus. *Journal of Virology*, 1981, 39(1): 238-245.
- [23] Isfort R J, Qian Z, Jones D, Silva R F, Witter R, Kung H J. Integration of multiple chicken retroviruses into multiple chicken herpesviruses: herpesviral gD as a common target of integration. *Virology*, 1994, 203(1): 125-133.

(责任编辑 林鉴非)