

SPF 鸡感染 vvIBDV 后免疫器官内肥大细胞及 5-HT 动态变化的观察

熊金茂, 王德成, 余锐萍, 罗冬梅, 陈丽丽, 岳卓

中国农业大学动物医学院, 北京 100094

[摘要] 为观察肥大细胞 (Mast Cell, MC) 在 vvIBDV 感染中的作用, 将 60 只 30 日龄无病原感染 (Specific Pathogen Free, SPF) 鸡随机分成感染组和对照组。感染组经滴鼻、点眼、肛拭感染超强毒株传染性法氏囊病毒 (very virulent Infectious Bursal Disease Virus, vvIBDV) 于 0, 24, 48 和 72 h 后, 分别取法氏囊、胸腺、脾脏, 用甲苯胺蓝染色法观察上述各组织中的 MC 数量的动态变化; 用免疫组化染色法检测各组织中 IBDV 病毒抗原和 5-HT 分布量的动态变化。结果表明: 与对照组相比, 感染组鸡各免疫器官中, MC 的数量随着病毒分布量的增加和组织损伤程度的加重而明显增多 ($P < 0.01$); MC 释放的介质之一——5-HT 的量也明显增多 ($P < 0.01$)。由此推断, MC 和 5-HT 参与了 IBD 的发病过程, 它们在 IBDV 感染引起的免疫器官严重损伤中可能起着重要的作用。

[关键词] 肥大细胞; 5-HT; IBDV; 免疫组化

[中图分类号] S851.34*7.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)13-0034-07

Study on the Dynamic Change of Mast Cell and 5-HT in Immune Organs of SPF Chickens Infected by Very Virulent Strains of IBDV(vvIBDV)

XIONG Jinmao, WANG Decheng, SHE Ruiping, LUO Dongmei, CHEN Lili, YUE Zhuo

College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China

Abstract: In order to study the potential role of mast cells in Special Pathogens Free (SPF) chickens infected by the very virulent Infectious Bursal Disease Virus (vvIBDV), 60 SPF chickens of 30 days of age were randomly divided into two groups (control group and vvIBDV tested group). The chickens in the tested group were inoculated with vvIBDV through nosedrop, eyedrop and anusub. Bursa of Fabricius, thymus and spleen were taken at 0, 24, 48, 72 hpi (hours post-infection). The dynamic change of mast cell was tested by improved Toluidine Blue (TB) staining. The quantity change of vvIBDV viral antigen and 5-HT in tissues were tested by immunohistochemistry. The results show: ① vvIBDV viral antigen is extensively distributed in the thymus, spleen, and bursa of Fabricius, however, the localization of vvIBDV viral antigen is different in different tissues and organs. Obviously, the positive substance of vvIBDV viral antigen in the experimental group enhances the inflammatory reaction in the major immune organs such as bursa of Fabricius, spleen and thymus. ② The number of mast cells obviously increases in the experimental group ($P < 0.01$) after vvIBDV infection. Compared with the control group, the mast cells gradually increase from 24 hpi to 48 hpi and 72 hpi ($P < 0.05$). And few mast cells could be found in the bursa, thymus and spleen of control group. ③ 5-HT, the product of mast cells, is distributed in the tissues according to the mast cells' distribution. The result suggests that mast cells and 5-HT participate in the infectious process of vvIBDV.

Key Words: mast cell; 5-HT; IBDV; immuno-histochemistry

CLC Number: S851.34*7.2

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)13-0034-07

收稿日期: 2007-05-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270995, 30471301)

作者简介: 熊金茂, 北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学动物医学院, 研究方向为黏膜免疫细胞和分子病理学;

E-mail: xiongjinmao@163.com

余锐萍 (通讯作者), 北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学动物医学院, 教授, 研究方向为黏膜免疫病理学和兽医公共卫生学; E-mail: sheruiping@126.com

传染性法氏囊病(Infectious Bursal Disease, IBD)是由传染性法氏囊病毒(Infectious Bursal Disease Virus, IBDV)引起的鸡的一种急性、高度接触性传染病,其病程短、死亡率高,是严重危害世界养禽业发展的重大疾病之一^[1]。IBDV 主要侵害鸡的免疫器官,造成免疫抑制。该病自发现至今,一直备受国内外学者的关注。当前对该病的研究多集中于分子流行病学和基因工程疫苗方面,对 IBDV 感染鸡体后的致病性、免疫特性、发病机制等方面的研究有待进一步深入。20 世纪 90 年代以来,在欧洲、非洲、亚洲以及南美洲一些国家相继出现了 vvIBDV^[2-4],在我国河北、四川等地鸡群也陆续发现了 vvIBDV 毒株的感染,传统的疫苗不能提供足够的保护,因此,感染鸡群的死亡率可高达 70%以上。vvIBDV 毒株的出现,使该病的发生和流行出现了新的特点,也给本病的诊断和防控提出了新的问题^[5]。

关于 IBD 的病原学方面的研究,国内外学者已在分子水平上进行了大量的工作,在发病机理方面的研究也已达到了分子水平^[6-11],但是关于 IBDV 如何引发炎症,造成鸡体损伤,尤其是 vvIBDV 感染后导致鸡体急剧的炎症反应和组织器官的严重损伤、造成高死亡率的机制还很少见研究报道。MC 是重要的炎症细胞之一,当受到致炎因子刺激后会脱颗粒,释放组织胺和 5-羟色胺,引起炎症反应。MC 在 IBD 发病过程中起什么作用?它是否参与或介导了 IBD 的炎症反应过程?此类研究尚未见报道。本研究以 MC 及其释放的炎症介质 5-羟色胺(5-HT)为切入点,观察 SPF 鸡感染 vvIBDV 后免疫器官中 MC 和 5-HT 的动态变化,以揭示 MC 在鸡 IBD 病理发生中的作用,从一个新的视角深入揭示 IBD 的发病机制,为进一步防治鸡 vvIBDV 毒株的感染提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

60 只 30 日龄 SPF 雏鸡,购于北京梅里亚动物保健公司。预饲 5 d 后,随机分为 2 组,感染组 45 只,对照组 15 只,所有鸡均在隔离器中饲养。

1.2 实验毒株

vvIBDV SNJ93 株,ELD50=10^{6.5}/0.2 mL,购自中国兽药监察所。使用前以灭菌生理盐水将毒株作 1:20 稀释。感染组鸡经滴鼻、点眼、肛拭攻毒,0.2 mL/只。对照组用灭菌生理盐水滴鼻、点眼、肛拭,0.2 mL/只。

1.3 取材

感染组于 24、48 和 72 h 后分别剖杀 15 只;对照组于 24、48 和 72 h 后分别剖杀 5 只,取法氏囊、胸腺、脾脏,用戊二醛-多聚甲醛混合固定液固定。

1.4 主要试剂

5-HT 多克隆抗体(Rabbit Anti-SEROTONIN)购于北京天来生物医学科技有限公司,二抗(生物素化羊抗兔 IgM)、三抗(HRP 标记链霉卵白素)、DAB 均购于北京中杉生物技术有限公司,IBDV 抗血清购自中国兽医药品监察所,HRP 标记羊抗鸡 IgG 购于 Sigma 公司。

1.5 染色方法及结果判定

所有组织经按常规石蜡切片技术脱水、包埋后,每个组织做 4 张连续切片(5 μm),分别进行 HE 染色、甲苯胺蓝染色和免疫组化染色。具体染色方法如下。

1.5.1 甲苯胺蓝染色

采用改良甲苯胺蓝染色法(MTB):石蜡切片常规脱蜡,经 100%、90%、95%、80%、70%、50%酒精梯度下行入蒸馏水,甲苯胺蓝染色 15 s,蒸馏水快速洗 2 次,95%酒精分色,100%酒精脱水,二甲苯透明封片。Olympus 显微镜下观察。镜下 MC 胞浆呈紫红色或红色团块状或颗粒状,胞核呈浅蓝色。

1.5.2 免疫组化染色

1) IBDV 抗原定位免疫组化染色:①石蜡切片常规脱蜡经 100%、90%、95%、80%、70%、50%酒精梯度下行入蒸馏水;② 3% H₂O₂ 孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;③ 山羊血清封闭 30 min;④ 加 IBDV 抗血清孵育 2 h, PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;⑤ 滴加 HRP 标记羊抗鸡 IgG,孵育 1 h, PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;⑥ DAB 显色 8 min,自来水充分冲洗;⑦ 苏木素复染 1 min;⑧ 盐酸酒精分色;⑨ 常规脱水,至透明,封片。用 PBS 代替一抗进行孵育做阴性染色对照。

2) 5-HT 免疫组化染色:除第④步用 5-HT 多克隆抗体(1:1 500)替代 IBDV 抗血清孵育 2 h 外,其余各步与 1)相同。

镜下免疫组化阳性信号呈棕黄色或棕红色团块状或颗粒状,胞核呈蓝色。

1.6 统计分析

甲苯胺蓝染色的后切片在 10×40 倍 Olympus 光学显微镜下计数每个视野下 MC 数,每个组织计数 5 个视野,计算出每个组织单位面积,每个时间点 MC 平均数和标准误差;5-HT 和 IBDV 抗原定位免疫组化染色切片用北京麦克奥迪图像技术有限公司的 CMIAS20001B 多功能真彩色病理图像分析系统,在同一放大倍数(×40)条件下采集图像,测量出每个视野阳性反应信号面密度(阳性目标总面积/统计场总面积),计算出每个组织单位面积、每个时间点阳性反应信号面密度平均数和标准误差。所有数据用 SPSS12.0 系统作统计分析,各时间点数据差异性采用配对 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有显著性, *P*<0.01 为差异极显著。

2 结果

2.1 免疫器官的组织病理学变化

2.1.1 法氏囊

在感染后 24 h, 大多数法氏囊淋巴滤泡髓质部淋

巴细胞缺失, 出现星空样变; 感染后 48 h, 淋巴滤泡间质水肿, 淋巴滤泡周边大面积出血, 大量炎性细胞浸润, 髓质部淋巴细胞排空; 感染 72 h, 淋巴滤泡大面积出血、坏死, 大量分叶核细胞浸润 (见图 1)。

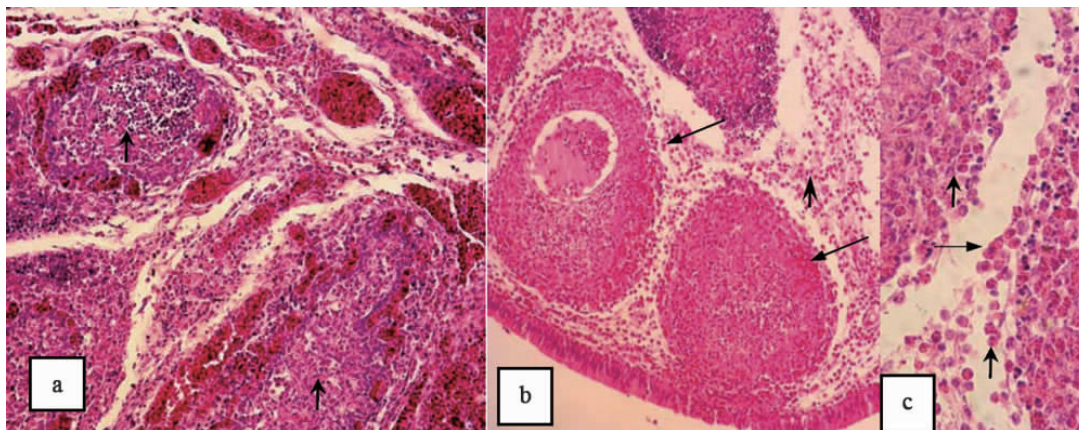


图 1 vvIBDV 感染后 72 h, 法氏囊淋巴滤泡间质水肿、出血 (HE 染色, a, b 20×; c 40×)

注: (a) 淋巴滤泡坏死 ↑; (b)、(c) 滤泡间质水肿, 大量分叶核细胞弥散浸润于间质和坏死组织中

Fig. 1 Severe edema and haemorrhage occurred in interstitium of lymphoid follicle of Fabricius bursa at 72 h post infection with vvIBDV (HE staining, a, b 20×; c 40×)

Note: (a) Necrosis in lymphoid follicle of Fabricius bursa. (b)、(c) Edema in interstitial tissue of lymphoid follicle, and diffusive infiltration of polymorph-nuclear leukocytes in interstitium and necrotic tissues

2.1.2 脾脏

感染后 24 h, 骨髓淋巴细胞轻度减少; 感染后 48~72 h, 骨髓淋巴细胞排空逐渐增多, 呈星空样变, 有的病例出现成片坏死 (见图 2)。

2.1.3 胸腺

感染后 24 h, 髓质结构疏松, 轻度水肿; 感染后 48 h,

部分胸腺小叶皮质区淋巴细胞减少, 髓质结构疏松, 中度水肿; 攻毒后 72 h, 皮质和髓质淋巴细胞明显减少, 皮质髓质分界不明显, 髓质内见大量分叶核粒细胞浸润 (见图 3)。

2.2 IBDV 抗原免疫组化染色结果

IBDV 感染后的不同时间, 法氏囊、脾脏、胸腺中

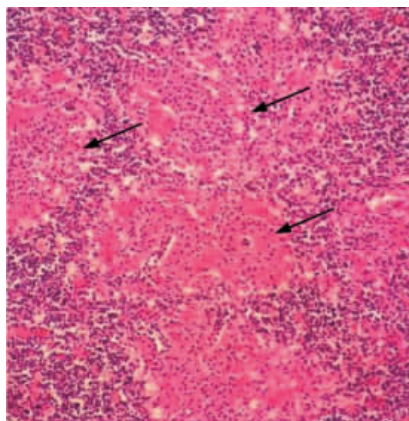


图 2 感染 vvIBDV 72 h 后, 脾脏白髓内的淋巴细胞成片坏死 (HE 染色, 20×)

Fig. 2 Necrosis of lymphocyte in splenic white pulp at 72 h post infection with vvIBDV (HE staining, 20×)

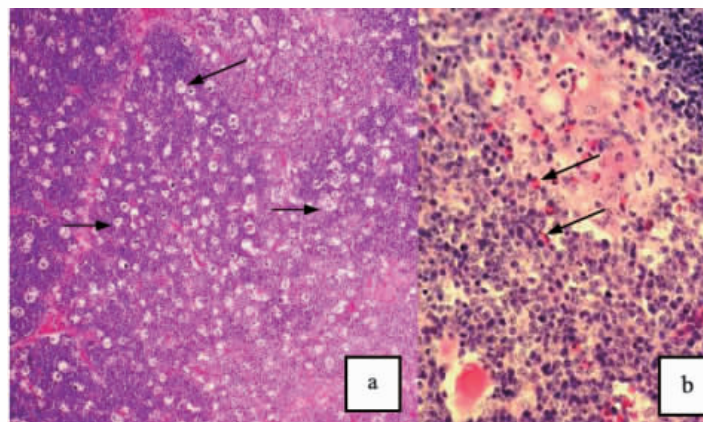


图 3 感染 vvIBDV 72 h 后, 胸腺内的淋巴细胞排空, 呈典型的“星空样变”, 髓质内可见大量嗜伊红颗粒细胞浸润 (HE 染色, a 10×; b 40×)

Fig. 3 Deletion of lymphocyte in thymus at 72 h post infection, typical "star-sky appearance" presented in thymus ↑
(a) A lot of polymorph-nuclear leukocytes infiltrated in thymus medulla ↑ (b) (HE staining, 20×)

IBDV 抗原分布面密度比较统计结果见图 4。

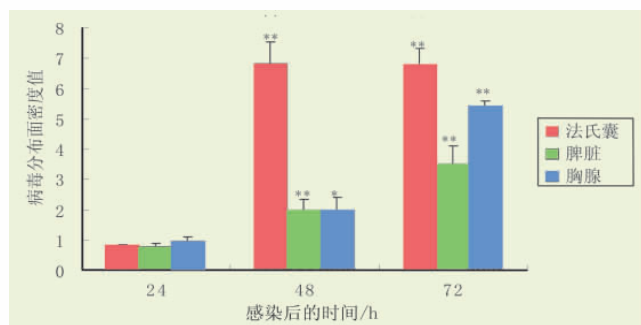


图 4 SPF 鸡感染 vvIBDV 后各免疫器官中病毒含量的变化

注: 与感染后 24 h 相比, ** 表示 $P<0.01$; * 表示 $P<0.05$

Fig. 4 Quantitative Change of the virus in the immune organs of SPF chickens infected by vvIBDV

Note: Compared with 24 hpi group, **denotes $P<0.01$; *denotes $P<0.05$

2.2.1 法氏囊

法氏囊中 IBDV 阳性反应信号的分布随着感染时间的延长而增多、增强。感染后 24 h, IBDV 阳性反应信号零星分布于淋巴滤泡间质和皮质部, 髓质部少见分布; 感染后 48 h, IBDV 阳性反应信号在淋巴滤泡髓质部分布增多, 滤泡间质和皮质部呈强阳性反应; 感染后 72 h, 整个法氏囊 IBDV 阳性反应信号呈弥散性分布, 滤泡皮质区呈强阳性反应 (见图 5)。感染后 48 h 和 72 h 阳性反应信号分布量均高于感染后 24 h 阳性反应信号分布量 ($P<0.01$)。

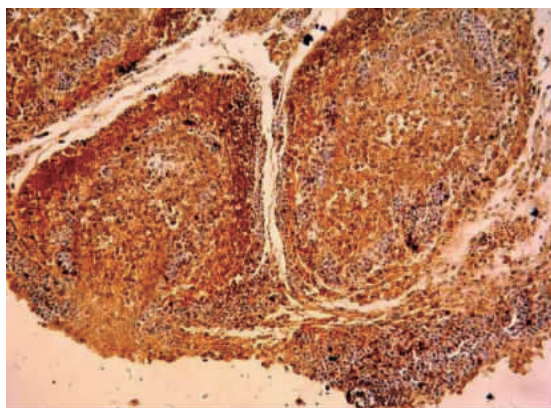


图 5 vvIBDV 感染后 72 h 法氏囊中 IBDV 免疫组化抗原定位, 阳性反应信号弥漫分布 (免疫组化染色, 20×)

Fig. 5 Distribution of vvIBDV antigen in Fabricius bursa at 72 h post infection with vvIBDV. Intensely positive reactive signals presented in diffusion (Immunohistochemical staining, 20×)

2.2.2 胸腺

胸腺中, IBDV 阳性反应信号主要分布于胸腺小叶髓质部和坏死灶局部 (见图 6)。感染后 48 h 和 72 h 阳性反应信号分布量均显著高于感染后 24 h 分布量 ($P<0.01$)。

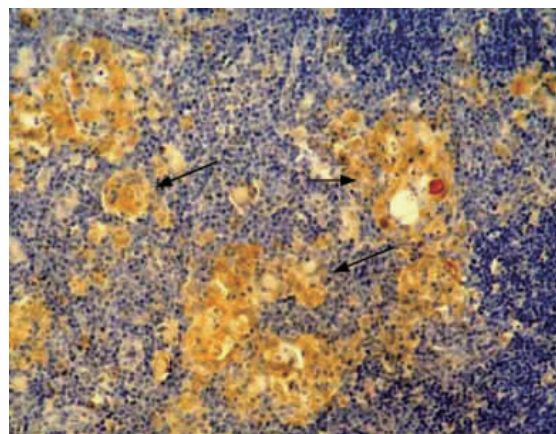


图 6 vvIBDV 感染后胸腺中 IBDV 免疫组化抗原定位, 阳性反应信号分布于胸腺的坏死灶处 (免疫组化染色, 40×)

Fig. 6 vvIBDV antigen in thymus with immunohistochemistry staining at 72 h post infection, the vvIBDV antigen positive reactivity distributed in necrotic area (Immunohistochemical staining, 40×)

2.2.3 脾脏

脾脏中阳性反应信号多见于骨髓, 红髓和脾小梁也见有分布。感染后 48 h 和 72 h 阳性反应信号分布量均显著高于感染后 24 h 分布量 ($P<0.01$)。

2.3 肥大细胞染色结果

对照组鸡法氏囊、胸腺、脾脏内见有少量的 MC 分布; 而鸡感染 vvIBDV 24 h 后, 在法氏囊淋巴滤泡间质可见有多量的 MC 分布, 胸腺、脾脏也较多见; 感染后 48 h, 法氏囊、脾脏、胸腺中 MC 分布均明显增多, 法氏囊被膜下结缔组织和淋巴滤泡间质中可见大量 MC 分布, 部分 MC 有明显脱颗粒现象。胸腺中 MC 的数量变化很明显, 随着感染时间的延长, 胸腺髓质区 MC 的数量显著增大 (图 7、图 8)。脾脏中也可见 MC, 主要分布于被膜下, 中央动脉周围也见有分布。SPF 鸡感染 IBDV 后各免疫器官中 MC 的数量分布见图 9。由图 9 可见, 与感染前相比较, 感染后各时相组免疫器官中 MC 的数量均显著增高 ($P<0.01$)。

2.4 5-HT 免疫组化染色结果

法氏囊中 5-HT 免疫组化阳性反应信号主要分布于淋巴滤泡间质和皮质中, 细胞质中充满棕色颗粒, 淋巴滤泡髓质部很少见阳性反应信号。与感染 0 h 相比,

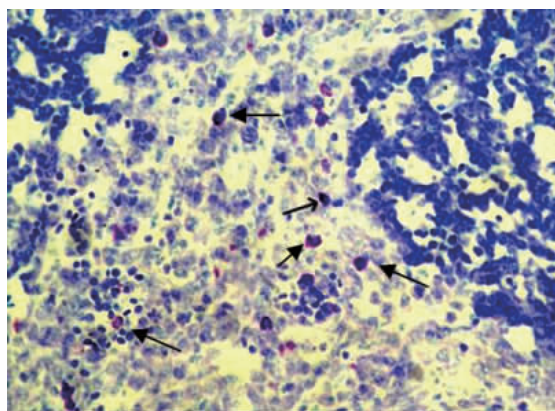


图 7 vvIBDV 感染后 72 h, 法氏囊中肥大细胞 ↑ 数量增多 (甲苯胺蓝染色, 40×)

Fig. 7 Number of mast cells increases remarkably in Fabricius bursa at 72 h post infection with vvIBDV (MTB staining, 40×)

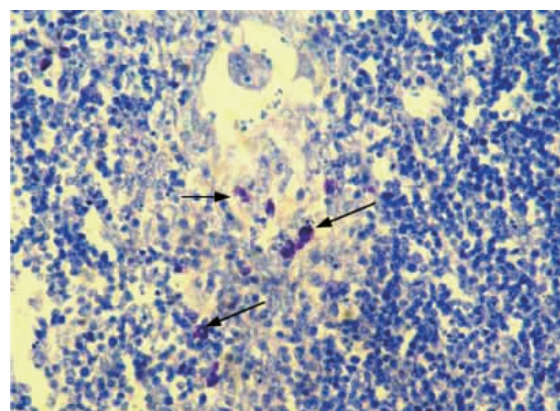


图 8 vvIBDV 感染后 72 h, 胸腺中肥大细胞 ↑ 数量增多 (甲苯胺蓝染色, 40×)

Fig. 8 Number of mast cells increases remarkably in thymus at 72 h post infection with vvIBDV (MTB staining, 40×)

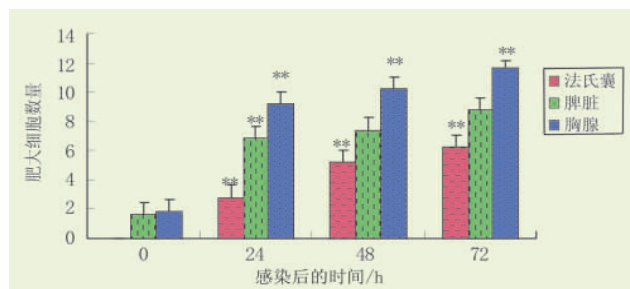


图 9 SPF 鸡感染 vvIBDV 后各免疫器官中 MC 数量的变化
注: 与感染 0 h 相比, ** 表示 $P < 0.01$

Fig. 9 Quantitative change of mast cells in the immune organs of SPF chickens infected by vvIBDV

Note: Compared with 0 hpi group, **denotes $P < 0.01$

感染后 24 h 阳性反应信号已明显增多 ($P < 0.01$), 感染后 24 h 相比 48 h 和 72 h 又有明显升高 ($P < 0.01$) (见图 10)。脾脏中阳性反应信号主要分布于红髓及中央动脉周围, 骨髓淋巴细胞间有少量的阳性反应信号存在 (见图 11)。与感染 0 h 相比, 感染后 72 h 阳性反应信号量明显升高 ($P < 0.01$)。胸腺中阳性反应信号分布于小叶髓质部 (见图 12), 皮质部只有少量阳性反应信号。与感染 0 h 相比, 感染后 48 h 和 72 h 阳性反应信号量都有明显增高 ($P < 0.01$)。各组织中 5-HT 分布面密度比较见图 13。

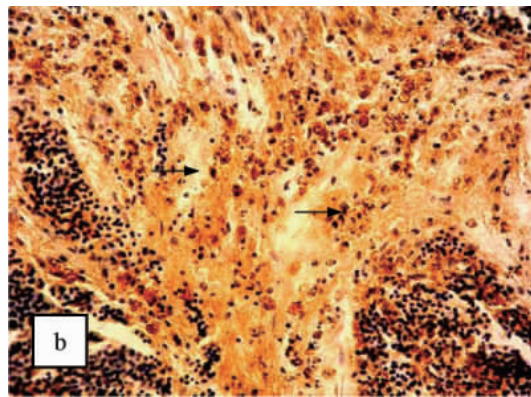
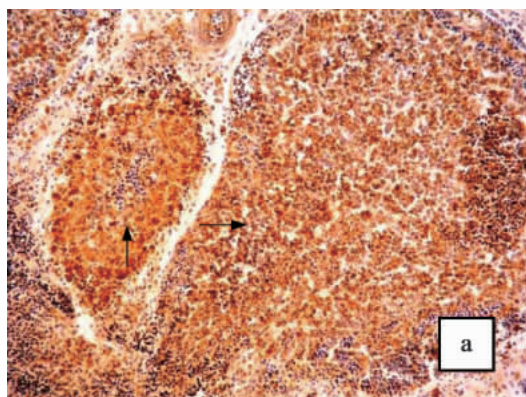


图 10 (a) vvIBDV 感染后 72 h 法氏囊中 5-HT 免疫组化阳性反应信号弥漫分布 (免疫组化染色, 20×)
(b) 滤泡间质炎性渗出液和炎性细胞均呈阳性反应 ↑ (免疫组化染色, 40×)

Fig. 10 (a) General distribution of 5-HT positive substance in BF at 72 h post infection by vvIBDV (Immunohistochemical staining, 20×)

(b) Inflammatory exudation and inflammatory cells in lymphoid follicles show an intensely positive reaction ↑ (Immunohistochemical staining, 40×)

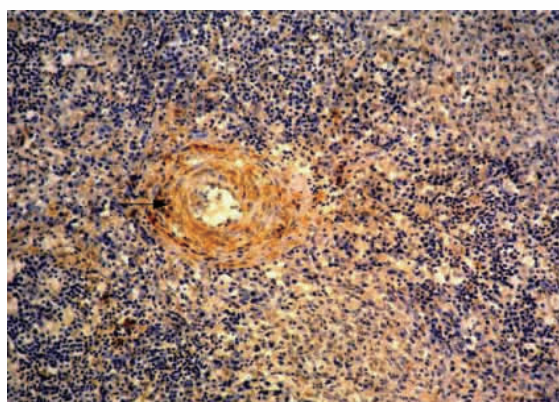


图 11 vvIBDV 感染后脾脏中 5-HT 免疫组化阳性反应信号弥散分布,血管壁呈强阳性反应 ↑ (免疫组化染色,20×)

Fig. 11 5-HT positive reactivity distributed in spleen post infection with vvIBDV. Vessel wall was intensely positive reaction ↑ (Immunohistochemical staining, 20×)

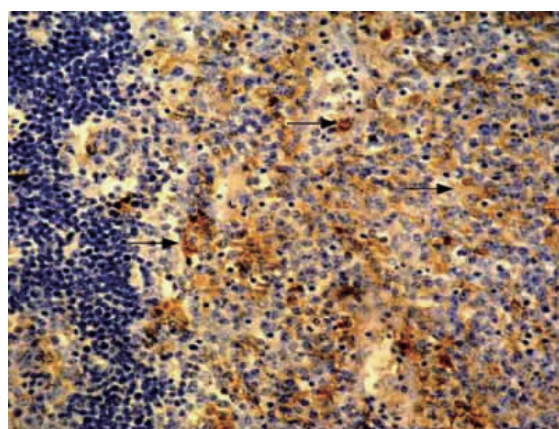


图 12 vvIBDV 感染后胸腺中 5-HT 免疫组化阳性反应信号弥散分布于胸腺髓质的细胞间隙 (免疫组化染色,40×)

Fig. 12 5-HT positive reactivity in thymus. 5-HT positive signals distributed mainly in intercellular space of thymic medulla (Immunohistochemical staining, 40×)

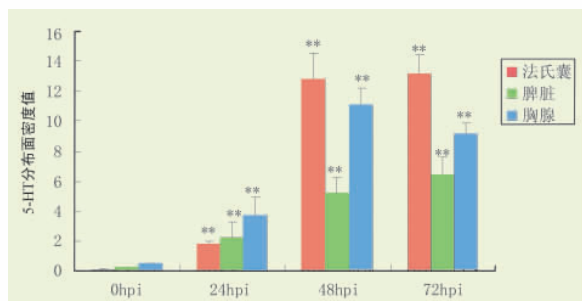


图 13 SPF 鸡感染 vvIBDV 后各免疫器官中 5-HT 含量的变化

Fig. 13 The Variation of 5-HT in the immune organs of SPF chickens infected by vvIBDV

3 讨论及结论

目前普遍认为免疫系统的结构损伤是 IBDV 导致鸡体免疫抑制的主要原因。但是,IBDV 是怎样引起免疫器官结构损伤的机制并不很清楚。有研究认为,该病是由 IBDV 引起法氏囊内大量 B 淋巴细胞坏死,进而引起鸡体免疫抑制,导致鸡体对其他病原微生物抵抗力降低^[6-8]。Kim 研究认为,T 淋巴细胞在 IBD 发病过程中起重要作用。在 IBD 发病时,CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞在法氏囊中大量聚集,在发病初期,这些 T 细胞能够抑制病毒的复制,但其释放的细胞因子和细胞毒效应能加速法氏囊的组织损伤和延迟组织修复^[9-10]。Khatri 等人的研究表明,巨噬细胞在 IBD 发病过程中大量增多,其分泌的相关细胞因子 IL-6,IL-1 β ,IL-18,iNOS 表达量都升高,推断巨噬细胞也可能是 IBDV 作用的靶细胞之一^[11]。近年,本室的研究发现,vvIBDV 感染鸡以后,免疫器官特别是法氏囊中的淋巴细胞除了坏死以外,更多的是通过凋亡的机制造成损伤^[12-13],并发现,在淋巴细胞成片死亡的同时,伴有大量的分叶核粒细胞渗出和大量出血的变化。本研究结果进一步验证了上述病理变化特点(见图 1)。至于 vvIBDV 是通过什么机制介导这种炎症反应的,尚未见研究报道。

MC 在天然免疫中具有重要的作用,它能吞噬和清除病原体,释放大量介质和募集中性粒细胞及嗜酸性粒细胞等,以启动早期的炎症反应,对宿主抵抗病原菌的侵袭具有重要的作用^[14]。5-HT 是 MC 释放的主要炎症介质之一,其主要作用是扩张细动脉和增加细静脉的通透性。MC 在各种病理过程中出现的意义还不完全清楚。一般认为,MC 及其炎症介质的释放多见于变态反应性炎症,也有报道在某些肿瘤和一些寄生虫感染时,可见局部 MC 数量增多^[15-18]。本研究室过去的研究曾观察到在兔感染巴氏杆菌后,其空肠和圆小囊组织中 MC 数量明显增多^[19]。MC 在病毒感染性疾病中担任什么角色尚少见报道。本文从一个新的视角系统观察了 SPF 鸡感染 vvIBDV 后免疫器官中 MC 及其释放的炎症介质 5-羟色胺的动态定量变化。结果发现:感染 vvIBDV 后,鸡的法氏囊、胸腺、脾脏等各个免疫器官中的 MC 及 5-HT 的数量均随着感染时间的延长而显著增多 ($P < 0.01$),并呈现出与 IBDV 在组织中的含量正相关的趋势,即组织中 IBDV 含量越多,MC 及 5-HT 的量也随之增多。随着病程的延长,组织病变愈加重,MC 及 5-HT 也显著增多,而且 MC 脱颗粒现象也越明显;同时,分叶核粒细胞的渗出也越严重。上述研究结果表明,MC 参与了 vvIBDV 引发的 IBD 的发病过程,其释放的炎症介质 5-HT 可能是介导 IBD 炎症发生的主要

因子,也可能是造成组织严重损伤的主要始动机制。详细机制还需进一步深入研究。

参考文献 (References)

- [1] MÜLLER H, ISLAM Md R, RAUE R. Research on infectious bursal disease—the past, the present and the future [J]. *Veterinary Microbiology*, 2003, 97: 153–165.
- [2] CHETTLER N, STUART J C, WYETH P J. Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia [J]. *Vet Rec*, 1989, 125: 271–272.
- [3] van den BERG T P, GONZE M, MEULEMANS G. Acute infectious bursal disease in poultry: Isolation and characterisation of a highly virulent strain[J]. *Avian Pathol*, 1991, 20: 133–143.
- [4] IKUTA N, EL-ATTRACHE J, VILLEGAS P, *et al.* Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses[J]. *Avian Dis*, 2001, 45: 297–306.
- [5] PITCOVSKI J, GUTTER B, *et al.* Development and large-scale use of recombinant VP2 vaccine for the prevention of infectious bursal disease of chickens[J]. *Vaccine*, 2003, 21: 4736–4743.
- [6] PANIGRAPHY B. Humoral and cell-mediated immune response in chickens with infectious bursal disease[J]. *Vet Microbiol*, 1982(7): 383–387.
- [7] van den BERG T P. Acute infectious bursal disease in poultry: A review[J]. *Avian Pathol*, 2000, 29: 175–194.
- [8] JUNGSMANN A, NIEPER H, MÜLLER H. Apoptosis is induced by infectious bursal disease virus replication in productively infected cells as well as in antigen-negative cells in their vicinity[J]. *J Gen Virol*, 2001, 82: 1107–1115.
- [9] KIM I J, YOU S K, KIM H, *et al.* Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus [J]. *J Virol*, 2000, 74: 8884–8892.
- [10] RAUTENSCHLEIN S, YEH H Y, NJENGA M K, *et al.* Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery [J]. *Arch Virol*, 2002, 147: 285–304.
- [11] KHATRI M, PALMQUIST J M, CHA R M, *et al.* Infection and activation of bursal macrophages by virulent infectious bursal disease virus[J]. *Virus Research*, 2005, 113: 44–50.
- [12] 刘玉峰, 余锐萍, 李慧姣. IBDV 感染鸡免疫器官淋巴组织中淋巴细胞凋亡调控蛋白的动态表达 [J]. *中国兽医科技*, 2004, 34(4): 67–70.
LIU Yufeng, SHE Ruiping, LI Huijiao. Dynamic expression of Bax and Bcl-2 in immunological organs of SPF chickens infected with different pathogenic infectious bursal disease virus [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2004, 34(4): 67–70.
- [13] 刘玉峰, 余锐萍, 李慧姣, 等. IBDV 超强毒株感染 SPF 鸡后法氏囊淋巴细胞凋亡及 Bax 和 Bcl-2 蛋白动态表达研究 [J]. *中国农业科学*, 2005, 38(2): 405–409.
LIU Yufeng, SHE Ruiping, LI Huijiao, *et al.* The apoptosis and dynamic expression of Bax and Bcl-2 in lymphocytes of bursa of SPF chickens infected with SNJ93 strain[J]. *Scientia Agricultura Sinica*. 2005, 38(2): 405–409.
- [14] 周艳春, 何韶衡. 肥大细胞在细菌和病毒感染中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(3): 607–611.
ZHOU Yanchun, HE Shaoheng. The role of mast cells in responses to bacterial and viral infection [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2006, 22(3): 607–611.
- [15] NAKAMURA Y. Increased number of mast cells in the dominant follicle of the cow: relationships among luteal stromal and hilar regions [J]. *Biol Reprod*, 1987, 37: 546.
- [16] 王开功, 许乐仁, 高登慧, 等. 肝片吸虫感染对反刍动物胆道黏膜肥大细胞数量的变化 [J]. *畜牧兽医学报*, 1996, 27(3): 265–268.
WANG Kaigong, XU Leren, GAO Denghul, *et al.* Effect of fasciola hepatica infection of mucosal mast cells of infection on the number bile ducts in ruminants [J]. *Acta veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1996, 27(5): 265–268.
- [17] CHERNIN J, MILLER H R P, NEWLANDS G E J, *et al.* Proteinase phenotypes and fixation properties of rat mast cells in parasitic infection caused by *Mesocostoides corti*: selective and site-specific recruitment of mast cell subsets[J]. *Parasitic Immunology*, 1988(10): 43–442.
- [18] STUART K N. Effect of *Treponema hyodysenteriae* infection on mucosal mast cells and T-cell in the murine cecum infect[J]. *Immunology*, 1990 (1): 88–92.
- [19] 呼格吉乐图, 余锐萍, 刘玉峰, 等. 家兔黏膜免疫器官肥大细胞在巴氏杆菌感染中的特征——组织化学与电镜观察[J]. *中国预防兽医学报*, 2006, 28(4): 419–422.
HUGEJILTU, SHE Ruiping, LIU Yufeng, *et al.* Histochemical and ultrastructural Characteristics of mast cells in mucosal immune apparatus in *Pasteurella cuniculorum* affected rabbits [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 28(4): 419–422.

(责任编辑 李慧政)