

## Reticuloendotheliosis virus의 닭에 대한 면역억제효과와 병원성

한 명 국 · 김 선 중\*

국립수의과학검역원 조류질병과  
서울대학교 수의과대학 조류질병학교실\*  
(2000년 4월 24일 게재승인)

### Immunosuppressive effects and pathogenicity of a Korean isolate of reticuloendotheliosis virus in chickens

Myung-guk Han, Sun-joong Kim\*

*Avian Disease Division, National Veterinary Research and Quarantine Service  
College of Veterinary Medicine, Seoul National University\**

(Accepted by Apr 24, 2000)

**Abstract** : Immunosuppressive effects of reticuloendotheliosis virus (REV) infection in chickens were investigated. Primary antibody responses to Newcastle disease virus (strain B1) and sheep red blood cells were significantly low in chickens inoculated with the local isolate 89-74 of REV compared to those of uninfected chickens.

In chickens infected with REV strain T or 89-74, blastogenesis of spleen cells and peripheral blood lymphocytes (PBL) to concanavalin A (Con A) was severely suppressed. When specific pathogen free (SPF) chickens were inoculated with the isolate, the suppressive effect was observed up to 7 weeks of age while, in the contact infected chickens, the suppression was absent. Similar suppressive effects were observed in chickens inoculated with REV strain T at 2, 3 and 4 weeks of age.

When spleen cells or PBL from uninfected chickens were co-cultured with spleen cells or PBL from chickens infected with REV at 1 day-old or 2 week-old, the blastogenesis of the normal cells was suppressed. The suppressive effect of PBL from REV-infected chickens on normal lymphocytes was abrogated by the treatment with trypsin. However the suppressive activity of the REV-infected PBL was not influenced at removing macrophage from the cell suspension by incubation in plastic petri dishes.

In addition to the immunosuppression, chickens infected with the REV isolate showed abnormal feather development (nakanuke), anemia, paralysis and retarded growth. Three out of 11 chickens inoculated with the isolate at day-old died between 6 and 9 weeks of age by bacterial infections.

**Key words** : reticuloendotheliosis virus, immunosuppression, blastogenesis, pathogenicity.

## 서 론

Reticuloendotheliosis virus(REV)는 single-stranded RNA 바이러스<sup>1</sup>로 avian leukosis-sarcoma virus group과는 다른 조류 C형 retrovirus에 속한다<sup>2,3</sup>. REV는 1958년에 입파종을 보인 칠면조에서 strain T가 최초로 분리 보고된<sup>4</sup> 이후 닭<sup>5</sup>, 오리<sup>6</sup>, 메추리<sup>7</sup>, 꿩<sup>8</sup> 그리고 거위<sup>9</sup>에서도 분리 보고되었다.

닭과 칠면조에서 300대 이상 계대하여 바이러스 성상이 변화된 strain T는 종양유전자(*v-rel*)를 가지고 있는 replication defective(rd) virus와 *v-rel* 유전자가 없으며 rd-REV의 증식을 돕는 replication nondefective(nd) virus로 구성되어 있으며 골수세포에서 증식된 REV는 rd-REV 보다 nd-REV(REV-A)가 월등히 높은 농도로 존재한다<sup>10,11</sup>. rd-REV의 종양원성은 닭이나 일부 닭 종양 유래 세포주에서 계대증식할 때는 유지되나 배양한 계대아섬유아세포(chicken embryo fibroblast, CEF)에서는 2-3회 계대증식하면 종양원성이 소실된다<sup>12-14</sup>.

Chicken syncytial virus(CSV), 오리에서 분리된 spleen necrosis virus(SNV) 및 duck infectious anemia virus(DIAV) 등은 REV strain T와 동일 혈청형이며<sup>15</sup> rd-REV strain T의 증식을 돕는 helper virus로 작용한다<sup>16</sup>.

rd-REV는 닭과 칠면조에서 높은 폐사율 및 간과 비장의 종대와 괴사를 특징으로 하는 급성 종양을 일으키며<sup>4</sup>, REV-A는 닭을 비롯한 여러 조류에 감염하여 다양한 임상증상과 병변을 보인다. REV-A에 감염된 닭은 Fabricius 낭과 흉선의 위축, 말초신경 종대, 깃털발육 이상(nakanuke), 선위염과 선위의 출혈, 성장지연 그리고 면역억제 등을 주증으로 하는 runting disease syndrome<sup>12,17,18</sup>과 더불어 닭 입파구성 백혈병과 유사한 만성 종양병을 유발시키기도 한다. Grimes *et al*<sup>19</sup>과 Witter *et al*<sup>20</sup>은 인공감염시킨 닭에서 간, 비장, 신장, 및 Fabricius 낭에 종양이 형성됨을 보고하였으며 혼하지 않으나 칠면조<sup>4,21</sup>, 닭<sup>22</sup>, 메추리<sup>7</sup> 그리고 오리<sup>6</sup>에서 REV-A의 자연감염에 의한 종양발생이 보고되었다.

REV 감염으로 인한 면역억제 현상은 여러 연구자들에 의하여 보고된 바 있다. REV에 감염된 닭은 면양 적혈구, *Brucella abortus*, bovine serum albumin과 같은 non-replicative 항원에 대해서 뿐만이 아니라 뉴캐슬병 바이러스(Newcastle disease virus, NDV) 및 마력병 백신에 대

해서도 항체형성이 불량하다<sup>23</sup>. 또한 REV 감염은 concanavalin(Con A), phytohemagglutinin(PHA), lipopolysaccharide와 같은 mitogenic stimulator에 대한 입파구 유약화 반응이 억제되는 것으로 보아 macrophage, B 세포 및 T 세포에 의한 면역감응도 억제하는 것으로 알려지고 있다<sup>24-26</sup>. 이러한 면역억제 효과 때문에 REV 감염은 계두, 전염성 후두기관염, 전염성 기관지염, 콕시듐증, 살모넬라 감염증 등 여러가지 질병에 대한 감수성이 높다<sup>27-29</sup>.

국내 계군에서도 REV가 분리되었을 뿐만 아니라 혈청학적인 조사결과 감염이 광범위하게 일어나고 있음이 확인되었다<sup>30</sup>. 본 연구는 REV-A와 더불어 국내에서 분리된 REV 분리주의 면역억제 능력과 병원성을 파악하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

**실험동물** : 실험에 사용한 병아리는 Sunrise 회사(NY, USA)에서 생산한 SPF 종란을 실험실에서 부화하여 flexible film isolator<sup>31</sup>에서 사육하면서 사용하였다.

**바이러스** : REV-A는 CEF 배양세포에서 4대 계대증식한 것을 Dr. N. Yuasa(Poultry Disease Laboratory, National Institute of Animal Health, Gifu, Japan)로부터 분양받았다. REV 국내 분리주 89-74는 4주동안 약 20%의 폐사율을 경험한 11주령의 백색 산란계에서 분리한 바이러스이다. 간접 형광항체 반응시험에서 분리주 89-74와 그 면역혈청은 REV-A 및 그 면역혈청과 교차반응을 보였으며 1일령 병아리에 접종하였을 때 REV 감염의 특징적인 깃털발육의 이상(nakanuke)을 일으키는 바이러스이다<sup>30</sup>.

본 연구에는 REV-A와 분리주 89-74를 CEF 배양세포에서 각각 8대, 10대 계대증식한 것을 접종재료로 사용하였다. 각 바이러스의 감염역가는 간접 형광항체 반응 시험으로 TCID<sub>50</sub>를 측정하였으며 감염역가는 모두 10<sup>2.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0.1ml이었다.

**세포배양 배지 및 시약** : 입파구 배양에 사용한 기본 배지는 혈청이 첨가되지 않는 RPMI 1640 배지(Gibco, USA)에 항생제(streptomycin sulfate: 200µg/ml, penicillin G: 200IU/ml)를 첨가하여 사용하였다. Mitogen으로 Con A(Sigma Chemical Co., USA)를 Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS)로 10mg/ml 되게 희석하여 -20℃에 보관하면서 사용하였다. 비장세포 배양에는 11µg/ml 농도로, 말초혈액 입파구 배양에는 22µg/ml 농도로 사용하였

다.  $^3\text{H}$ -methyl thymidin(NEN Research products, DuPont, USA, specific activity : 6.7Ci/mmol)은 well 당 1.0  $\mu\text{Ci}$ 를 사용하였다.

REV 분리주 89-74 감염계에서의 병원성 및 항체 생성능 조사 : SPF 병아리를 각 군별로 11수씩 3군으로 나누고 무접종 대조군과 REV 분리주 89-74 접종군 및 이와 동거사육한 접촉감염군으로 배치하였다. REV는 1일령 때 경부피하로 수당 0.2ml씩( $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml) 접종하였으며 접촉감염군은 1일령부터 접종군과 같은 isolator에서 사육하였다. 이후 3주령 때 NDV B1주를 수당  $10^{6.0}$  EID<sub>50</sub>를 점안 접종하였으며 동시에 면양적혈구를 수당  $5 \times 10^7$  세포를 정맥내로 접종하였다. 또한 3주 후에는 동일한 방법과 접종량으로 2차 접종하였다. 항체가 측정을 위하여 1차 및 2차 접종후 주간격으로 3주간 상완정맥에서 채혈을 실시하였다.

NDV에 대한 항체는 8 HA units의 LaSota 주를 사용한 혈구응집 억제반응으로 측정하였으며 면양적혈구에 대한 항체는 0.5% 농도의 적혈구를 사용하여 van der Zijpp과 Leenstra<sup>32</sup>의 방법에 따라 실시한 적혈구응집 반응으로 측정하였다.

접종 3주 후부터 10주까지 체중과 적혈구 용적을 측정하였으며 깃털발육 이상 등 임상증상을 18주령까지 관찰하였다.

#### 임파구 유약화 반응 측정을 위한 REV 접종

REV-A 접종 : SPF 병아리를 4개 군으로 나누고 한 군은 무접종 대조군으로 하였으며 나머지 3개 군은 2주, 3주 및 4주령 때 각각 REV-A를 접종하여 다른 isolator에 사육하면서 실험에 사용하였다. 바이러스 접종은 수당 0.2ml씩( $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml) 복강내로 접종하였다. 바이러스 접종후 주간격으로 정상군에서는 2수씩, 접종군에서는 3수씩 선발하여 경추 탈골로 희생시켜 비장에서 임파구를 분리하여 임파구 유약화 반응을 측정하였다.

REV 분리주 89-74 접종 : SPF 병아리를 10수씩 3개 군으로 나누고 한 군은 무접종 대조군으로, 나머지 2개군은 접종군과 이와 동거사육한 접촉감염군으로 하였다. 접종군은 1일령 때 REV 분리주 89-74를 수당 0.2ml씩( $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml) 경부피하로 접종하였으며 3주령부터 7주령까지 매주 각 군에서 5수씩 선발하여 말초혈액으로부터 임파구를 분리하여 임파구 유약화 반응을 측정하였다.

#### 임파구 유약화 반응

비장과 말초혈액에서 임파구 분리 : 비장과 말초혈액

에서의 임파구 분리는 각각 Lee et al<sup>33</sup>과 Sivanandan과 Maheswaran<sup>34</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 분리한 비장 또는 말초혈액 임파구는 D-PBS로 3회 세척한 다음 RPMI 1640 배지에 부유하였으며 trypan blue dye exclusion에 의하여 생세포 수를 계산하였다.

임파구 유약화 반응 : 임파구 유약화 반응은 Lee et al<sup>33</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 임파구 수를  $5 \times 10^6/\text{ml}$  되게 조절하여 96-well flat bottom microplate(Nunc, Denmark)에 180 $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 Con A 20 $\mu\text{l}$ 씩 각 well에 첨가하였으며 대조로는 Con A 대신 RPMI 1640 배지를 사용하였다. 이와같이 처리한 plate는 습도와 5% CO<sub>2</sub> 분압이 유지되는 인큐베이터에서 48시간 배양한 다음  $^3\text{H}$ -thymidin을 각 well에 1.0  $\mu\text{Ci}$ 씩 가하여 18시간 재배양하였다. 임파구의  $^3\text{H}$ -thymidin uptake를 측정하기 위하여 배양 종료된 세포를 cell harvester(Nunc, Denmark)를 사용하여 glass fiber filter paper(Skaatron, Norway)에 여과 및 세척하고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 건조한 후 scintillation tube(Sarstedt, Germany)에 filter disk를 넣어 5ml scintillation cocktail(NEN Research Products, USA)에 용해하였다. 그 뒤  $\beta$ -liquid scintillation counter(Beckman, Model : LSC-100)로 방사능 활성도(cpm)를 측정하였다. 모든 임파구 유약화 반응시험은 3회 반복 실시하였으며 방사능 활성도(cpm)은 평균치로 표시하였다. 모든 반복실험에서 평균 cpm 값이 2,000 이하인 경우 임파구 유약화 반응이 현저하게 억제된 것으로 간주하였다<sup>35</sup>.

정상계와 REV 감염계의 임파구 혼합배양 : 상기한 방법에 따라 비장 또는 말초혈액으로부터 분리한 정상계 임파구 100 $\mu\text{l}$ ( $5 \times 10^6/\text{ml}$ )와 Con A 20 $\mu\text{l}$ 를 각 well에 분주하고 37 $^{\circ}\text{C}$  CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 30분간 배양한 다음 REV 감염계에서 분리한 임파구를 동량( $5 \times 10^6/\text{ml}$ ) 가하여 임파구 유약화 반응측정과 동일한 방법에 따라 배양하여 방사능 활성도를 측정하였다. 대조로서 REV 감염계 대신 정상계 임파구를 사용하였다. REV-A 감염실험에서는 2주령 때 REV-A를 접종한 군에서 주간격으로 임파구를 분리하여 혼합배양에 이용하였으며 무감염 대조계와 감염계 임파구를 개체별로 조사하였다. 분리주 89-74 감염실험에서는 1일령 때 분리주를 접종한 후 3주부터 5주까지 주별로 말초혈액에서 분리한 임파구를 각 시험군별로 혼합하여 조사하였다.

Macrophage 제거 및 trypsin 처리 : REV 감염계의 말초혈액에서 분리한 세포 5ml( $5 \times 10^6/\text{ml}$ )를 100-mm plas-

tic petri dish에 분주하여 37℃ CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 45분간 배양한 후 petri dish를 가볍게 흔들어 부유세포를 조심스럽게 분리하는 방법으로 부착세포를 제거하였다.

REV 감염계에서 분리한 임파구의 trypsin 처리는 Carpenter *et al*<sup>36</sup>의 방법에 따라 처리하였다.

통계처리 : 본 실험에서 얻은 성적은 Student *t*-test를 이용하여 통계적 유의성을 검정하였다<sup>37</sup>.

## 결 과

REV 분리주 89-74 감염계에서의 NDV와 면양적혈구에 대한 항체형성 : REV 분리주 89-74 접종군은 무감염 대조군에 비하여 NDV에 대한 항체가는 1차 접종 1주 후에 그리고 면양적혈구에 대한 항체가는 1차 접종 후 3주동안 모두 유의성 있는 낮은 역가를 보였다. 2차 접종 후 두 면역원에 대한 항체가는 유의성 있는 차이는 없었으나 접종군은 대조군에 비하여 전반적으로 낮게 나타났다. 한편 접종군과 동거사육한 접촉감염군에서의

두 면역원에 대한 항체가는 대조군과 유사한 결과를 보였다(Table 1).

REV-A의 접종일령에 따른 임파구의 유약화 반응 : REV A를 2주령, 3주령 및 4주령된 닭에 접종하고 5주령까지 매주 비장에서 임파구를 분리하여 Con A에 대한 유약화 반응을 측정하였다(Table 2).

REV-A를 2주령된 병아리에 접종하였을 때 접종 1주 후에 동일령의 대조군에 비하여 3수중 2수에서 임파구 유약화 반응이 현저하게 억제되었으며 접종 2주후에는 3수 모두 임파구 유약화 반응이 억제되었으나 접종 3주후에는 유약화 반응억제가 나타나지 않았다. 3주령 때 접종한 병아리의 임파구 유약화 반응은 접종 1주후에는 3수 모두 심하게 억제되었으나 2주후에는 3수중 1수에서만 억제되었다. 한편 4주령에 접종하여 접종 1주후에 분리한 접종계 임파구의 유약화 반응은 3수중 2수가 심하게 억제되었다.

REV 분리주 89-74 감염계의 임파구 유약화 반응 : REV 분리주 89-74를 1일령 때 접종한 군과 이와 동거사

Table 1. Immune responses to NDV and sheep red blood cells (SRBC) in chickens inoculated or contact infected with REV isolate 89-74

WPI <sup>1)</sup>	Antigen	Chicken groups and mean antibody titer(log <sub>2</sub> )		
		Control	Contact	Inoculated
1	NDV	2.6±0.9 <sup>2)</sup>	3.6±0.7	1.0±1.4 <sup>*3)</sup>
	SRBC	6.2±1.3	6.3±0.8	1.4±2.3*
2	NDV	5.6±1.3	5.9±1.8	3.7±2.3
	SRBC	4.0±2.0	4.0±1.5	0.3±1.0*
3	NDV	6.0±1.2	6.6±1.3	4.9±2.1
	SRBC	3.0±1.9	2.7±1.3	0.4±0.7*
4	NDV	5.5±0.9	5.7±0.7	5.0±2.4
	SRBC	5.4±1.1	4.9±0.9	4.0±3.0
5	NDV	4.9±0.8	5.2±0.8	4.9±1.6
	SRBC	3.3±1.2	3.6±0.7	2.2±2.1
6	NDV	4.3±1.0	3.9±0.5	3.8±1.5
	SRBC	2.6±1.3	2.6±1.5	1.1±1.6

<sup>1)</sup> Weeks postinoculation.

<sup>2)</sup> Mean ± standard deviations.

<sup>3)</sup> Mean values are significantly different compared to those of control group (\* : p<0.01).

Table 2. <sup>3</sup>H-thymidin uptake by spleen cells from uninfected chickens or chickens inoculated with REV-A at different ages

Infection age (week)	Chicken number <sup>1)</sup>	Weeks of age and cpm		
		3	4	5
Uninfected	1	109,279 ± 19,004 <sup>2)</sup>	32,325 ± 1,667	5,468 ± 1,260
	2	86,093 ± 5,884	42,621 ± 2,204	28,868 ± 1,587
2	1	117,694 ± 4,051	523 ± 93	25,866 ± 2,071
	2	57 ± 10	307 ± 133	7,469 ± 712
	3	44 ± 9	155 ± 45	4,194 ± 1,141
3	1		43 ± 7	7,146 ± 194
	2		30 ± 6	4,819 ± 200
	3		25 ± 2	94 ± 8
4	1			17,533 ± 1,493
	2			40 ± 5
	3			39 ± 6

<sup>1)</sup> Chickens tested at each infection period were not the same individuals.

<sup>2)</sup> Mean ± standard deviation.

육한 접촉감염군 및 무감염 대조군에서의 임파구 유약화 반응 결과는 Table 3과 같다.

접종후 3주부터 7주까지 매주 각 군에서 5수씩 임파구 유약화 반응을 조사하였을 때 접종군에서는 접종후 3주 및 4주에는 5수 모두에서 그리고 5주 이후에는 2~3수에서 임파구의 유약화 반응이 현저하게 억제되었다. 또한 각 시기별 평균 방사능 활성도에서도 전 기간에 걸쳐 접종군은 대조군에 비하여 현저하게 낮은 방사능 활성도를 보여주었으나 접종후 시간이 경과함에 따라 점차 회복되는 양상을 보여주었다. 한편 접촉감염군의 경우 임파구 유약화 반응이 현저하게 억제된 개체는 관찰되지 않았으나 평균 방사능 활성치는 대조군에 비하여 전반적으로 낮게 나타났다.

무접종 대조군의 방사능 활성치는 개체에 따라 차이가 있어 최저 9,136에서 최고 36,017이었으나 Buscaglia *et al*<sup>35)</sup>이 제시한 면역억제 수준인 2,000 이하의 cpm값을 보이는 개체는 없었다. 또한 이러한 방사능 활성도의 개체차이는 다른 연구자의 보고에서도 확인되었다<sup>24-26)</sup>.

REV-A 감염계 임파구가 정상계 임파구 유약화 반응에 미치는 영향 : REV-A 감염계 임파구의 단독배양에서

유약화 반응이 현저하게 억제된 임파구는 정상계 임파구와 혼합배양시 정상계 임파구의 유약화 반응을 억제시켰다(Table 4). 이러한 현상은 REV 감염후 1주와 2주에 가장 뚜렷하였으나 감염 3주후에는 억제현상이 미약하게 관찰되었다. 한편 개체별 혼합배양 결과를 볼 때 임파구 분리에 사용한 정상계나 감염계에 따라서도 억제현상의 차이를 보여주었다. 즉, 감염 1주후의 REV 감염계 R2와 R3은 단독배양시 모두 비슷한 정도로 심한 억제가 있었으나 혼합배양시 정상계 C2 임파구에 비하여 정상계 C1 임파구에 대해서는 억제정도가 다소 미약하게 나타났다. 또한 감염 2주후의 경우 REV 감염계 R1 및 R2는 정상계 C1 및 C2의 임파구 유약화 반응을 현저하게 억제하는데 반하여 감염계 R3는 정상계 C1 임파구에 대해서는 현저하게 억제하나 C2 임파구에 대해서는 그 억제정도가 미약하게 나타났다.

REV 분리주 89-74 감염계 임파구의 정상계 임파구의 유약화 반응에 미치는 영향과 감염계 임파구의 처리 효과 : REV 분리주 89-74 접종 3주후부터 5주후까지 매주 감염계와 같은 일령의 정상계 5수씩으로부터 분리한 말초혈액 임파구를 시험군 별로 혼합하여 각기 단독배

**Table 3.** <sup>3</sup>H-thymidin uptake by peripheral blood lymphocyte from chickens inoculated or contact infected with REV local isolate 89-74 at one day old

WPI <sup>1)</sup>	Chicken number	Chicken groups and mean cpm		
		Control	Contact	Inoculated
3	1	26,560	17,093	244
	2	20,813	13,495	123
	3	18,570	12,158	92
	4	14,471	9,749	31
	5	12,276	7,991	19
	Mean±SD	18,538±5,596	12,097±3,510	102±90* <sup>2)</sup>
4	6	22,676	18,308	1,191
	7	17,223	14,320	456
	8	11,085	9,166	153
	9	9,366	8,706	80
	10	9,136	6,760	78
	Mean±SD	13,897±5,900	11,652±5,112	392±473*
5	11	36,017	14,492	6,700
	12	19,352	11,691	4,253
	13	15,738	10,519	3,650
	14	13,394	3,621	142
	15	11,712	2,549	105
	Mean±SD	19,243±9,805	8,574±5,229	2,970±2,838
6	16	27,506	29,564	11,602
	17	18,012	19,300	6,070
	18	15,244	10,194	3,580
	19	13,567	9,352	615
	20	13,453	7,682	398
	Mean±SD	17,556±5,859	15,218±9,205	4,453±4,628
7	21	18,858	22,420	19,182
	22	17,440	18,643	3,055
	23	16,690	14,407	1,779
	24	15,121	5,654	449
	25	12,721	3,392	272
	Mean±SD	16,166±2,351	12,903±8,197	4,947±8,036

<sup>1)</sup> Weeks postinoculation.

<sup>2)</sup> Mean values are significantly different compared to those of control group (\*: p<0.01).

Table 4. Suppressive effects of spleen cells from REV-A inoculated chickens on the response of normal spleen cells to Con A

Cell source <sup>1)</sup>	Weeks post inoculation and mean cpm		
	1	2	3
C1	109,279±19,004 <sup>2)</sup>	32,325±1,667	5,468±1,260
C2	86,093±5,884	42,621±2,204	28,868±1,587
R1	117,694±4,051	523±93	25,866±2,071
R2	57±10	307±133	7,469±712
R3	44±9	55±45	4,194±1,141
C1+C2	66,150±6,329	32,884±3,070	9,590±530
C1+R1	43,891±3,858	282±121	7,757±289
C1+R2	6,475±951	63±18	3,669±325
C1+R3	2,511±127	64±24	3,408±489
C2+R1	5,065±841	77±9	13,543±1,816
C2+R2	71±26	104±13	8,970±247
C2+R3	62±18	2,787±600	8,489±746
R1+R2	349±92	67±3	1,832±291
R1+R3	58±7	66±6	2,037±816
R2+R3	54±9	61±5	1,232±170

<sup>1)</sup> Uninfected normal chickens (C) and REV-A inoculated chickens (R) at each infection period were not the same individuals.

<sup>2)</sup> Mean±standard deviations.

Table 5. Suppressive effects of peripheral blood lymphocyte (PBL) from REV isolate 89-74 inoculated chickens on the response of normal PBL to Con A

Cell source <sup>1)</sup>	Treatment <sup>2)</sup>	Weeks post inoculation and mean cpm		
		3	4	5
C	NT	10,100±1,052 <sup>3)</sup>	9,097±950	8,151±354
R	NT	23±7	201±37	540±105
R	∅	188±45	57±21	717±87
C+R	NT	372±186	625±42	1,127±341
C+R	∅	552±276	633±70	1,201±408
C+R	Trypsin	7,501±692	11,219±1,216	8,803±356

<sup>1)</sup> Pooled PBL from five each uninfected (C) and infected (R) chickens were used.

<sup>2)</sup> Cells from REV infected chickens were used either as untreated (NT) or after removal of macrophages (∅) or trypsin treatment.

<sup>3)</sup> Mean±standard deviations.

양과 혼합배양하여 입파구 유약화 반응을 조사하였다. 또한 감염계 입파구로부터 탐식세포의 제거 또는 trypsin 처리후 정상계 입파구와 혼합배양하여 입파구 유약화 반응을 조사하였다(Table 5).

REV 분리주 89-74 감염계의 입파구와 정상계 입파구를 혼합배양하였을 때 전 기간에 걸쳐 입파구 유약화 반응이 심하게 억제되었으나 접종후 시간이 경과함에 따라 다소 완화되는 경향을 보였다. 그러나 감염계의 입파

Table 6. Pathogenicity of REV isolate 89-74 for inoculated and contact infected chickens

Weeks PI	Chicken group	Body weight		Hematocrit (%)	Feather abnormality
		g	%		
3	Control	169.4±12.7 <sup>1)</sup>	100	33.1±1.0 <sup>2)</sup>	0/11 <sup>3)</sup>
	Contact	167.4±17.1	99	32.0±1.5	0/11
	Inoculated	137.7±16.3 <sup>4)</sup>	81	28.6±3.1	8/11
4	Control	259.1±25	100	31.2±2.4	0/11
	Contact	249.1±26.3	96	31.4±1.5	0/11
	Inoculated	204.6±36.5*	79	27.2±3.5	11/11
5	Control	338.4±41.9	100	29.5±0.8	0/11
	Contact	300.1±33.3	89	28.9±1.3	0/11
	Inoculated	240.1±45.1*	71	25.3±4.2*	11/11
6	Control	410.0±50.2	100	32.8±1.7	0/11
	Contact	368.2±57.1	90	33.6±2.8	0/11
	Inoculated	268.0±60.7*	65	28.6±5.5	10/10
7	Control	498.2±64.9	100	30.8±2.2	0/11
	Contact	453.6±72.6	91	27.1±8.4	0/11
	Inoculated	323.3±61.4*	65	26.7±3.0*	10/10
8	Control	600.9±79.6	100	30.3±1.7	0/11
	Contact	554.0±72.4	92	31.8±2.7	0/11
	Inoculated	403.3±94.1*	67	26.4±3.5*	9/9
9	Control	707.3±107.0	100	30.5±3.2	0/11
	Contact	637.3±96.0	90	25.6±2.5*	0/11
	Inoculated	458.9±100.4*	65	25.2±2.9*	6/8
10	Control	844.5±122.8	100	29.1±3.1	0/11
	Contact	742.7±142.8	88	27.3±8.6	0/11
	Inoculated	505.0±89.4*	60	28.3±2.3	0/8

<sup>1), 2)</sup>: Mean±standard deviations.

<sup>3)</sup> No. of chickens showed feather abnormality/No. of chickens.

<sup>4)</sup> Mean values are significantly different compared to those of control group (\*: p<0.01).



구를 trypsin으로 처리한 후 정상계의 임파구와 혼합배양 하였을 때는 전 기간에 걸쳐 임파구 유약화 반응의 억제 는 나타나지 않았다. 한편 감염계 임파구에서 탐식세포 를 제거한 후 동일한 방법으로 혼합배양하였을 때 감염 계 임파구의 정상계 임파구 유약화 반응억제는 제거되 지 않은 것으로 나타났다.

REV 분리주 89-74의 병원성 측정 : 분리주 89-74를 1일령 병아리에 접종하고 접종 3주후부터 10주후까지 주간격으로 접종군, 접종군과 동거사육한 접촉감염군 및 대조군의 체중, 적혈구 용적 및 깃털발육 이상을 측정, 관찰하였다(Table 6).

접종군의 체중증가는 접종 3주후에 대조군 체중의 81% 였고 접종 10주후에는 대조군 체중의 60%로 점차 낮아 지는 경향을 보였으며 전 관찰기간에 걸쳐 대조군과의 유의성 있는 성장지연을 보였다( $p < 0.01$ ). 한편 접촉감염 군의 체중은 대조군에 비하여 유의성 있는 차이는 없었 으나 관찰기간동안 대조군 체중의 88-99% 수준이었다. 접종군의 적혈구 용적은 접종후 5주, 7주, 8주 및 9주에 대조군과 유의성 있는 감소를 보였으나( $p < 0.01$ ) 접촉감염군은 접종후 9주에만 대조군과 유의성이 있는 차이가 인정되었다( $p < 0.01$ ). 깃털발육 이상은 접종군에서만 접 종후 3주부터 관찰되기 시작하여 접종후 4주부터 8주까 지 모든 접종군에서 관찰되었으며 접종후 9주부터는 소 실되기 시작하여 10주에는 완전히 소멸되었다. 접종후 6주에는 접종군에서 다리와 날개 마비를 보이는 개체가 2수 관찰되었으며 2주후에는 완전히 회복되었다.

접종후 6주와 9주 사이에 접종계 3수가 폐사하였으며 폐사체로부터 *Escherichia coli* 와 *Pseudomonas spp.*를 분 리하였다. 접종후 18주에 시험을 종료하고 접종계에서 종양형성 유무를 육안적으로 관찰하였으나 특이적인 병 변을 보인 개체는 없었다.

## 고 찰

REV-A는 만성종양과 runting disease를 일으킬 뿐만 아 니라 강력한 면역억제를 일으키는 것으로도 잘 알려져 있다<sup>12,17,18</sup>. 면역억제는 REV strain과 면역원에 따라서 체 액면역 억제정도에 차이가 있으나 viremia 상태와는 관 계가 없다<sup>20</sup>. 또한 면양적혈구나 *Brucella abortus* 와 같은 면역원에 대한 면역반응도 REV strain에 따라 1차 및 2차 면역반응 억제정도에 차이가 있다고 보고되었다<sup>20</sup>.

REV 분리주의 면역억제에 관한 연구결과를 보면 육 용종계군에서 분리한 REV는 strain T에 비하여 면양 적 혈구와 *Brucella abortus* 면역원에 대한 체액면역이 더욱 현저하게 억제시키나 어느 strain의 경우에도 접촉감염군 의 면역반응은 대조군과 차이가 없다고 보고되었다<sup>23</sup>. 또한 REV strain F를 발육중인 계란에 접종한 군과 이로부터 부화된 병아리와 1일령부터 접촉감염시킨 군의 NDV 생독백신에 대한 면역반응은 접촉감염군에 비하여 발육계란 감염군에서 현저하게 낮으며 발육계란 접종군 에서는 모두 viremia가 지속되었다고 보고되었다<sup>38</sup>. Yoshida et al<sup>39</sup>은 마력병 백신에서 분리한 2주의 REV를 1일 령 때 접종하고 8주령 때까지 주령별로 NDV B1 백신을 접종하고 백신접종 2주후에 NDV에 대한 항체가를 조사 한 바 전 기간에 걸쳐 무감염 대조군에 비하여 항체가가 현저하게 낮았으나 접촉감염군은 대조군과 차이가 없 다고 하였다. 본 실험에 사용한 국내 분리주 89-74도 1일령 때 접종한 군에서 NDV와 면양적혈구에 대한 면역반응 이 현저하게 억제된 것으로 나타나 강력한 체액면역 억 제능력이 있음을 입증하였다. 또한 접종군에서의 체액 면역 억제현상은 1차 면역반응에 국한된 점과 접촉감염 군에서 면역억제 현상이 관찰되지 않은 점은 타 연구자 의 결과와 일치하였다. REV 접종군의 NDV와 면양 적혈 구에 대한 2차 면역반응 정도가 대조군에 비하여 유의성 있게 억제되지 않은 것은 접종후 시간이 경과하면서 REV 접종계의 면역능이 회복되기 때문인 것으로 생각 된다. 또한 임파구의 유약화 반응을 측정된 결과에서도 REV 접종계 임파구의 방사능 활성도가 접종후 시간이 경과하면 증가하여 REV에 의하여 억제된 면역능이 회 복된다는 것과 연관이 있는 것으로 생각된다.

REV 감염에 의한 T 임파구의 유약화 반응 억제현상 은 여러 연구자들에 의하여 보고되었다. Scofield와 Bose<sup>25</sup>는 4주령, 5주령 및 6주령 때 REV-T를 접종하고 6-9일 후에 말초혈액 임파구의 PHA에 대한 유약화 반응을 조 사한 바 감염주령에 차이가 없이 모두 심한 억제현상이 있다고 하였다. Buscaglia et al<sup>35</sup>은 17일령의 발육계란에 REV-A를 접종하고 부화직후 재접종한 후 2주령 때 임 파구의 Con A에 대한 유약화 반응은 현저하게 억제되었 으나 29-32일령 때 접종하고 10일 후에 조사하였을 때는 뚜렷한 억제현상이 없음을 보고 나이가 들어감에 따라 immune competence를 획득한 결과로 해석하였다. Rup et al<sup>26</sup>은 2-5주령 때 REV-A를 접종하고 접종 5주후까지

매주 비장에서 분리한 임파구의 PHA에 대한 유약화 반응을 조사한 바 접종 2주후까지는 모두 개체에서 심한 억제 현상이 관찰되었으나 접종 3주후부터 억제현상을 보이지 않는 개체가 출현하기 시작하여 접종 5주후에는 모두 정상적인 유약화 반응을 보인다고 하였다. 이들은 또 viremia 상태의 간접적 지표인 혈청중의 reverse transcriptase activity의 소실은 정상적인 임파구 유약화 반응과 밀접한 관계가 있다고 하였다. Witter *et al*<sup>20</sup>도 1일령 때 REV-A를 감염시키고 17주령 때 viremic 군과 non-viremic 군으로 구별하여 PHA에 대한 임파구 유약화 반응을 조사한 바 viremic 군에서만 현저한 유약화 반응 억제현상을 관찰하였다. 이러한 연구결과들은 접종일령에 따라 viremia 기간이 다르고 viremia 유무에 따라 임파구 유약화 반응도 영향을 받는 것으로 추측된다.

REV strain에 따라 임파구 유약화 반응에 미치는 영향에는 차이가 있어 REV-A, SNV 및 DIAV는 심한 유약화 반응을 억제시킨 반면 CSV는 억제현상이 미약하다<sup>20,25,26</sup>. Witter와 Johnson<sup>25</sup>은 2주의 REV 아의 분리주는 REV-A 보다도 더욱 강력한 임파구 유약화 반응 억제를 일으켰다고 하였다. 본 연구에서 REV-A 감염계의 경우 4주령 때 감염되어도 뚜렷한 임파구 유약화 반응 억제현상이 관찰되긴 하였으나 대체로 어린 일령에 감염될수록 유약화 반응 억제기간이 길어지는 양상을 보여주었다. 분리주 89-74 감염계의 경우 감염일령이 다르기 때문에 REV-A와 직접 비교할 수는 없으나 접종 4주후까지도 모든 개체에서 뚜렷한 임파구 유약화 억제현상을 보였으며 접종 7주후에도 일부 개체에서 정상계의 3% 미만의 유약화 반응을 보임으로서 유약화 반응 억제능력이 강할 뿐만 아니라 장기간 지속됨을 추측하게 하였다. 한편 접촉감염군은 무감염 대조군과 차이가 없었다. 접촉감염군에서의 이러한 성적은 다른 연구자의 성적과 일치하였으며<sup>23</sup> 체액면역 결과와 병원성 실험결과를 종합하여 고찰할 때 단순한 REV의 접촉감염은 경제적 손실을 미치지 않을 것으로 여겨진다.

Scofield와 Bose<sup>25</sup>는 2~5주령된 닭에 REV를 접종하여 9일 후에 비장에서 분리한 임파구를 같은 나이의 정상계 임파구와 혼합배양하였을 때 정상계 임파구의 유약화 반응은 억제되었다고 하였다. 그러나 6주령과 9주령에 REV를 접종하고 각각 14일과 11일 후에 비장에서 분리한 임파구를 단독배양하였을 때는 유약화 반응이 억제되었으나 정상계 임파구와 혼합배양하였을 때는 정상계

임파구의 유약화 반응을 억제하지 못하였다고 보고하였다. 본 실험에서 REV-A나 REV 분리주 89-74 감염계 임파구는 모두 정상계 임파구의 유약화 반응을 억제하는 능력을 보여주었다. 그러나 감염후 시간이 경과함에 따라 정상계 임파구 유약화 반응 억제정도는 완화되는 경향을 보여주었다. 한편 본 실험에서는 REV 감염계 임파구의 정상계 임파구 유약화 반응 억제정도는 REV 감염계 뿐만 아니라 정상계 임파구에 따라서도 차이가 있음을 알 수 있었다. Rup *et al*<sup>26</sup>은 REV 감염계 임파구에 의한 정상계 임파구의 유약화 반응 억제시험에서 본 실험과 유사한 성적을 얻었으나 혼합배양에 사용한 정상계 임파구를 단지 한 마리만을 사용하였기 때문에 실험에 사용하는 정상계에 따른 억제정도를 밝힐 수 없었다.

Carpenter *et al*<sup>24</sup>과 Scofield와 Bose<sup>25</sup>는 REV에 의한 suppressor factor는 임파구 배양액, REV 또는 REV 유래 세포주에 의하여 나타나지 않으며 REV 접종계 임파구의 정상계 임파구의 유약화반응 억제는 REV 접종계 임파구를 trypsin으로 처리하면 소실되어 suppressor cell의 표면에 inhibitory protein이 노출되어 있음을 보고하였다. 또한 연구자들은 REV 접종계 임파구의 유약화 반응억제는 anti-IgG 혈청이나 보체에 의해서도 영향을 받지 않으며 REV 접종계 임파구에서 macrophage를 제거하여도 소실되지 않기 때문에 suppressor cell은 B 임파구나 macrophage가 아니라고 하였다. 또한 외과적으로 흉선을 절제한 닭은 REV 감염에 의한 폐사도 감소하여 mitogen에 대한 반응의 억제가 감소하는 것으로 보아 T 임파구가 suppressor cell이라고 하였다. 본 실험에서도 분리주 89-74 감염계 임파구가 정상계 임파구의 유약화 반응을 억제하는 일은 trypsin에 의하여 소실되었으며 macrophage와는 관련이 없었다.

REV 분리주 89-74의 병원성을 조사한 결과 REV 접종계에서는 성장지연, 깃털발육 이상 및 빈혈 등이 관찰되었다. 또한 접종 6주후에는 마비증상을 보이는 닭도 있었으며 11수중 3수가 *Escherichia coli*와 *Pseudomonas spp.* 등 2차적인 세균감염으로 폐사하였는데 이것은 체액면역 및 세포성 면역의 억제로 나타나는 전형적인 runting syndrome의 발현이라 여겨진다. 18주령에 실험을 종료하여 접종계의 종양형성 유무를 관찰하였던 바 특이할 만한 소견은 보이지 않았다. Witter *et al*<sup>7</sup>은 REV-A 접종계에서 마렉병과 유사한 신경종대를 보였다고 하였으나 본 연구에서는 관찰되지 않았다. Kawamura *et al*<sup>18</sup>과 Yu-

asa *et al*<sup>40</sup>이 보고한 것과 일치하는 REV 감염의 전형적인 증상인 깃털발육 이상은 접종후 3주부터 9주까지 지속되었다. 그러나 Grimes *et al*<sup>19</sup>은 REV/Q/1/73 접종계와 동거사육한 접촉감염군에서 깃털발육 이상을 보고하였으나 본 연구에서는 관찰되지 않았다.

REV 국내 분리주 89-74가 체액면역과 임파구 유약화 반응을 억제시킨다는 결과가 실제 야외에서 일어나는 백신효과 및 생산성 저하와 어떤 관련이 있는지는 앞으로의 연구를 통하여 규명되어야 할 과제로 사료된다.

## 결 론

REV 국내 분리주 89-74의 닭에 대한 병원성과 감염계에서의 체액면역과 임파구 유약화 반응을 조사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. REV 국내 분리주 89-74 접종군은 무감염 대조군에 비하여 NDV와 면양 적혈구에 대한 면역반응이 유의성 있게 낮았다. 그러나 접촉감염군은 대조군과 차이가 없었다.

2. REV-A와 분리주 89-74 감염계의 임파구는 Con A에 대한 유약화 반응이 현저하게 억제되었으며 접촉감염계의 유약화 반응은 대조군과 차이가 없었다.

3. REV 감염계의 임파구와 정상계 임파구를 동수로 혼합배양하였을 때 정상계 임파구의 유약화 반응이 억제되었으나 감염계 임파구를 trypsin으로 처리한 후 혼합배양하였을 때 그러한 유약화 반응의 억제는 소실되었다. 한편 감염계의 macrophage는 임파구 유약화 반응의 억제와는 무관하였다.

4. REV 감염계에서는 성장지연, 빈혈, 마비, 깃털발육 이상(nakanuke) 및 2차적인 세균감염에 의한 폐사 등이 관찰되었다.

## 참 고 문 헌

1. Beemon KL, Faras AJ, Haase AT, *et al*. Genomic complexities of murine leukemia and sarcoma, reticuloendotheliosis, and visna viruses. *J Virol*, 17:525-537, 1976.
2. Helpem MS, Wade E, Rucker E, *et al*. A study of the relationship of reticuloendotheliosis virus to the avian leukosis-sarcoma complex of viruses. *Virology*, 53:

- 287-299, 1973.
3. Maldonado RL, Bose HR. Relationship of reticuloendotheliosis virus to the avian tumour viruses: Nucleic acid and polypeptide composition. *J Virol*, 11:741-747, 1973.
4. Robinson FR, Twiehaus MJ. Isolation of the avian reticuloendothelial virus (strain T). *Avian Dis*, 18:278-288, 1974.
5. Aulisio CG, Shelokov A. Prevalence of reticuloendotheliosis in chickens: Immunofluorescence studies. *Pro Soc Exp Biol Med*, 130:178-181, 1969.
6. Grimes TM, Purchase HG. Reticuloendotheliosis in a duck. *Aust Vet J*, 49:466-471, 1973.
7. Carlson HC, Seawright GL, Pettit JR. Reticuloendotheliosis in Japanese quail. *Avian Pathol*, 3:169-175, 1974.
8. Dren CsN, Saghy E, Glavits R, *et al*. Lymphoreticular tumour in pen-raised pheasants associated with a reticuloendotheliosis-like virus infection. *Avian Pathol*, 12:55-71, 1983.
9. Dren CsN, Nemeth I, Sari I, *et al*. Isolation of a reticuloendotheliosis-like virus from naturally occurring lymphoreticular tumours of domestic goose. *Avian Pathol*, 17:259-277, 1988.
10. Chen ISY, Mak TW, O'Rear JJ, *et al*. Characterization of reticuloendotheliosis virus strain T DNA and isolation of a novel variant of reticuloendotheliosis virus strain T by molecular cloning. *J Virol*, 40:800-811, 1981.
11. Wong TC, Lai MMC. Avian reticuloendotheliosis virus contains a new class of oncogene of turkey origin. *Virology*, 111:289-293, 1981.
12. Witter RL, Purchase HG, Burgoyne GH. Peripheral nerve lesions similar to those of Marek's disease in chickens inoculated with reticuloendotheliosis virus. *J Natl Cancer Inst*, 45:567-577, 1970.
13. Campbell WF, Baxter-Gabbard KL, Levine AS. Avian reticuloendotheliosis virus (strain T). I. Virological characterization. *Avian Dis*, 15:837-849, 1971.
14. Sasaki T, Koyama H. Characterization of cell lines transformed *in vivo* and *in vitro* by reticuloendotheliosis

- virus-T strain. *Avian Pathol*, 18:307-319, 1989.
15. Purchase HC, Ludford C, Nazerian K, *et al.* A new group of oncogenic viruses: Reticuloendotheliosis, chick syncytial, duck infectious anemia, and spleen necrosis viruses. *J Natl Cancer Inst*, 51:489-499, 1973.
  16. Hoelzer JD, Franklin RB, Bose HR. Transformation by reticuloendotheliosis virus: Development of a focus assay and isolation of a nontransforming virus. *Virology*, 93:20-30, 1979.
  17. Mussman HC, Twiehaus MJ. Pathogenesis of reticuloendotheliosis virus disease in chicks - an acute runtting syndrome. *Avian Dis*, 15:483-502, 1971.
  18. Kawamura H, Wakabayashi T, Yamaguchi S, *et al.* Inoculation experiment of Marek's disease vaccine contaminated with a reticuloendotheliosis virus. *Natl Inst Anim Hlth*, 16:135-140, 1976.
  19. Grimes TM, Bagust TJ, Dimmock CK. Experimental infection of chickens with an Australian strain of reticuloendotheliosis virus. I. Clinical pathological and haematological effects. *Avian Pathol*, 8:57-68, 1979.
  20. Witter RL, Smith EJ, Crittenden LB. Tolerance viral shedding and neoplasia in chickens infected with non-defective reticuloendotheliosis viruses. *Avian Dis*, 25: 374-394, 1981.
  21. Sarma PS, Jain DK, Mishra NK, *et al.* Isolation and characterization of viruses from natural outbreaks of reticuloendotheliosis in turkeys. *J Natl Cancer Inst*, 54:1355-1359, 1975.
  22. Ratnamohan N, Grimes TM, Bagust TJ, *et al.* A transmissible chicken tumour associated with reticuloendotheliosis virus infection. *Aust Vet J*, 56:34-38, 1980.
  23. Witter RL, Johnson DC. Epidemiology of reticuloendotheliosis virus in broiler breeder flocks. *Avian Dis*, 29:1140-1154, 1985.
  24. Carpenter CR, Bose HR, Rubin AS. Contact-mediated suppression of mitogen-induced responsiveness by spleen cells in reticuloendotheliosis virus-induced tumorigenesis. *Cell Immunol*, 33:392-401, 1977.
  25. Scofield VL, Bose HR. Depression of mitogen response in spleen cells from reticuloendotheliosis virus-infected chickens and their suppressive effect on normal lymphocyte response. *J Immunol*, 120:1321-1325, 1978.
  26. Rup BJ, Spence JL, Hoelzer JD, *et al.* Immunosuppression induced by avian reticuloendothelial virus: Mechanism of induction of the suppressor cell. *J Immunol*, 123:1362-1370, 1979.
  27. Motha MXJ. Effects of reticuloendotheliosis virus on the response of chickens to infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathol*, 11:457-486, 1982.
  28. Motha MXJ, Egerton JR. Effect of reticuloendotheliosis virus on the response of chickens to *Salmonella typhimurium* infection. *Res Vet Sci*, 34:188-192, 1983.
  29. Motha MXJ, Egerton JR. Outbreak of atypical fowlpox in chickens with persistent reticuloendotheliosis viraemia. *Avian Pathol*, 16:177-182, 1987.
  30. 김선중, 성환우, 한명국. 자연감염된 닭으로부터 reticuloendotheliosis virus의 분리. 대한수의학회지, 30: 20(부록), 1991.
  31. 김선중. 시험계 사육용 격리사육상의 조립과 적용에 관한 연구. 서울대학교 수의대논문집, 11:171-178, 1986.
  32. van der Zijpp AJ, Leenstra FR. Genetic analysis of the humoral immune response of white Leghorn chicks. *Poultry Sci*, 59:1363-1369, 1980.
  33. Lee LF, Sharma JM, Nazerian K, *et al.* Suppression of mitogen-induced proliferation of normal spleen cells by macrophages from chickens inoculated with Marek's disease virus. *J Immunol*, 120:1554-1559, 1978.
  34. Sivanandan V, Maheswaran SK. Immune profile of infectious bursal disease: I. Effect of infectious bursal disease virus on peripheral blood T and B lymphocytes of chickens. *Avian Dis*, 24:715-725, 1980.
  35. Buscaglia C, Calnek BW, Schat KA. Effect of immunocompetence on the establishment and maintenance of latency with Marek's disease herpesvirus. *J Gen Virol*, 69:1067-1077, 1988.
  36. Carpenter CR, Rubin AS, Bose HR. Suppression of the mitogen-stimulated blastogenic response during reticuloendotheliosis virus-induced tumorigenesis: Investigation into the mechanism of action of the suppressor. *J Immunol*, 120:1313-1320, 1978.

37. Yoshida I, Sakata M, Fujita K. Modification of low virulent Newcastle disease virus infection in chickens infected with reticuloendotheliosis virus. *Natl Inst Anim Hlth*, 21:1-6, 1981.
38. Ianconescu M, Aharonovici A. Persistent viraemia in chickens subsequent to *in ovo* inoculation of reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathol*, 7:237-247, 1978.
39. Yoshida I, Sakata M, Fujita K, *et al.* Modification of low virulent Newcastle disease virus infection in chickens infected with reticuloendotheliosis virus. *Natl Inst Anim Hlth*, 21:1-6, 1981.
40. Yuasa N, Yoshida I, Taniguchi T. Isolation of a reticuloendotheliosis virus from chickens inoculated with Marek's disease vaccine. *Natl Inst Anim Hlth*, 16:141-151, 1976.
-