

鸡白细胞干扰素的研究*

曹 汉 威

(畜牧兽医系)

提 要

本研究采用鸡血细胞和鸡脾细胞诱生外源性干扰素。对不同种(株)的病毒、病毒剂量、营养液等因素对干扰素产生的影响进行了比较,测定了鸡白细胞干扰素的产生曲线和干扰素预处理鸡脾细胞后对干扰素产量的影响,也进行了干扰素提纯方法及其临床应用的研究。

试验结果表明,在I系新城疫病毒、F系新城疫病毒、鸡传染性支气管炎病毒、仙台病毒四种(株)病毒中,以F系新城疫病毒诱导干扰素的能力较强;病毒剂量对干扰素的产量影响不大;RPMI1640细胞培养液比0.5%水解乳白Hanks液为好;鸡脾细胞在F系新城疫病毒作用后4小时即产生干扰素,12~20小时达到最高产量;干扰素预处理鸡脾细胞后,引起干扰素产量明显下降;采用硫酸铵盐析法将干扰素进行部份提纯,可提高纯度19.8倍,平均回收率为75.3%;干扰素能明显地减轻感染了传染性囊病的鸡的腔上囊的病变程度,看来对鸡传染性囊病会具有一定的防治作用。

前 言

干扰素(Interferon, IFN)是在特定的诱导剂作用下,由细胞产生的一种糖蛋白。它不但具有广谱的抗病毒活性,而且还具有抑制肿瘤细胞生长,调节免疫机能等多种生物学活性。在防治病毒病及肿瘤方面,干扰素是一种很有希望的生物制剂。自1957年Isaace & Lindenmann^[1]发现干扰素以来,一直受到许多科学工作者的重视,并对之作了广泛和深入的研究。

1961年Gresser^[2]发现,在病毒诱导下人白细胞可以产生高滴度的干扰素,随后,经过许多实验室的研究,使人白细胞干扰素的生产与制备方法日趋完善,并进行相当规模的生产,成为人类干扰素的重要来源。至于畜禽干扰素方面,国外研究较多的是纤维母细胞干扰素,亦有少数关于牛^[14]、羊^[15]、兔^[13]、猪、鸡^[16]等动物白细胞干扰素研究的报道。在国内,早在1963年王用楫等^[1]已进行了鸡纤维母细胞干扰素的研究。近年来也有关于猪、兔、水貂、鸭的内源性干扰素的研究。但至今尚未见有关于外源性鸡白细胞干扰素的正式报道。

* 本文是在导师欧守抒教授的指导下完成的。并得到中山医学院传染病科实验室、广东省农业科学院兽医研究所和本院其他有关老师多方面的帮助。在病理学检查方面,得到本系毛鸿甫副教授,罗庆芳老师和广州动植物检疫所黄亚德同志的指教,在此深表谢意!

本研究以鸡血细胞或鸡脾细胞在病毒的诱导下,在体外进行鸡白细胞干扰素的产生试验,并着重于有关鸡白细胞干扰素诱生条件的研究。同时,对鸡白细胞干扰素进行部份提纯,并初步实验性地将干扰素应用于鸡传染性囊病的防治。

材 料 与 方 法

(一) 细胞培养

1. 单层鸡胚细胞和单层鸭胚细胞的制备:参照常规的方法^[7]制作。

2. 鸡脾细胞原液的制备:以无菌手术从健康鸡中取出脾脏,用Hanks液冲洗3~4次,将脾脏去除包膜,尽量剪碎,然后加入少量的RPMI 1640细胞培养液(含10%的小牛血清),用吸管吹打数次,经两层无菌纱布过滤,用同样的细胞培养液稀释至含脾细胞约 $8 \sim 10 \times 10^7$ /毫升。

3. 鸡血细胞的获取:由心脏采血,每毫升血液加入50~100单位的肝素作抗凝。

(二) 试验动物

刚出壳的白来航雏鸡,来源于广州市种苗公司,在严格隔离的条件下饲养15天,经检查证明没有感染传染性囊病后才作试验之用。

(三) 病毒

F系新城疫病毒(Newcastle disease virus strain F, NDV-F)、仙台病毒(Sendai virus, SDV)、水泡性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus Indiana strain, VSV),系由中山医学院传染病科实验室赠给。I系新城疫病毒(Newcastle disease virus strain Mukteswar, NDV-I)系由广东省农业科学院兽医研究所赠给。鸡传染性支气管炎病毒(Infectious bronchitis virus, IBV)、鸡传染性囊病病毒(Infectious bursal disease virus, IBDV)系由本系禽病教研室提供。

(四) 鸡白细胞干扰素的制备

本试验采用鸡血细胞和鸡脾细胞作为干扰素生产细胞。两者诱生干扰素的方法基本相同,均参照人全血细胞诱生干扰素的方法^[8]。根据不同试验项目的需要,在诱导干扰素过程中,分别情况加入不同种(株)的病毒作诱导剂或使用不同的病毒剂量,不同种类的细胞营养液,以及不同的培养时间等,为了避免动物个体的差异,每组比较试验均取来自同一动物个体的细胞作为干扰素的产生细胞。

(五) 干扰素的效价测定

本试验采用细胞病变抑制法(Cytopathic effects inhibition, CPEI)^[9]测定干扰素的效价。以VSV作为被干扰病毒,用单层鸡胚细胞作检测细胞,能抑制50%细胞病变的最高稀释度为一个干扰素活性单位。以 $\log_2$ CPEI₅₀/ml或单位/毫升(u/ml)表示。

试 验 及 结 果

试验一 几种(株)病毒诱生干扰素能力的比较

以鸡脾细胞作为产生干扰素的细胞，用RPMI1640（含10%小牛血清）作营养液，分别加入NDV—F（剂量为160HA单位/ml脾细胞原液），NDV—I（剂量为40HA单位/ml脾细胞原液），SDV（剂量为160HA单位/ml脾细胞原液）和IBV（剂量为每毫升脾细胞原液加2万个半数鸡胚致死量）作干扰素诱导剂。四种（株）病毒诱生干扰素的结果见表1。

表1 不同种（株）病毒诱生干扰素的结果

试 验 号	NDV—F	NDV—I	IBV	SDV
1	10.49*	9.15	8.55	7.94
2	9.42	8.99	8.91	7.14
3	9.59	9.24	7.48	9.56
$\bar{x} \pm s\bar{x}$	9.83 $\pm$ 0.57	9.13 $\pm$ 0.13	8.31 $\pm$ 0.74	8.21 $\pm$ 1.23

* 干扰素效价为 $\text{Log}_2\text{CPEI}_{50}/\text{ml}$

从表1可见，在该项试验中，以NDV—F诱生干扰素的能力较强（干扰素平均效价为9.83 $\pm$ 0.57），其次是NDV—I（干扰素平均效价为9.13 $\pm$ 0.13），IBV和SDV诱生干扰素能力较差（干扰素平均效价分别为8.31 $\pm$ 0.74和8.21 $\pm$ 1.23）。但经统计学处理表明，除NDV—F与IBV之间诱生干扰素的能力差异显著外（ $P < 0.05$ ），其他几种（株）病毒之间的诱生能力差异不显著（ $P > 0.05$ ）。

试验二 干扰素预处理的鸡脾细胞对干扰素产生的影响

接入白细胞干扰素制备的方法，首先将粗制的鸡白细胞干扰素与鸡脾细胞原液混合（剂量为150单位干扰素/ml脾细胞原液），置37°C水浴一小时后，加入NDV—I（剂量为40HA单位/ml脾细胞原液），置37°C水浴一小时，然后再加入为脾细胞原液体积2倍量的营养液（RPMI1640，含10%小牛血清），置37°C转鼓培养24小时，收获上清液。对照组除不加粗制鸡白细胞干扰素外，其余步骤都与干扰素处理组的相同。该项试验结果见表2。

表2 干扰素处理鸡脾细胞后，对干扰素产生的影响

试 验 次 数	IFN + NDV—I	NDV—I
1	6.98*	9.15
2	6.93	8.99
3	6.84	9.24
$\bar{x} \pm s\bar{x}$	6.92 $\pm$ 0.07	9.13 $\pm$ 0.13
滴 度 差	2.21	
t 检 验	$P < 0.01$	

* 干扰素滴度为 $\text{Log}_2\text{CPEI}_{50}/\text{ml}$

结果表明, 干扰素处理组产生的干扰素效价较对照组为低, 二组之间的干扰素平均滴度差为 $2.21\text{Log}_2 \text{CPEI}_{50}$, 经统计学分析表明, 两组之间干扰素效价的差异极显著 ($P < 0.01$)。

试验三 干扰素产生动态的研究

用含10%小牛血清的RPMI1640营养液制成的脾细胞悬液, 加入NDV-F, 置转鼓上 37°C 培养。分别在培养0, 4, 12, 16, 20, 24, 36小时后收获细胞培养的上清液。测定干扰素的效价并绘成曲线如图1。

结果表明, 在0小时, 细胞培养上清液中未能测出干扰素的存在, 在转鼓上培养4小时, 细胞培养液中出现可检测到的干扰素; 培养至12小时, 则产生大量的干扰素, 并且一直维持至第20小时; 以后, 随细胞培养时间的延长, 培养液中干扰素含量逐渐降低, 培养至36小时, 细胞培养液中只含有低量的干扰素。

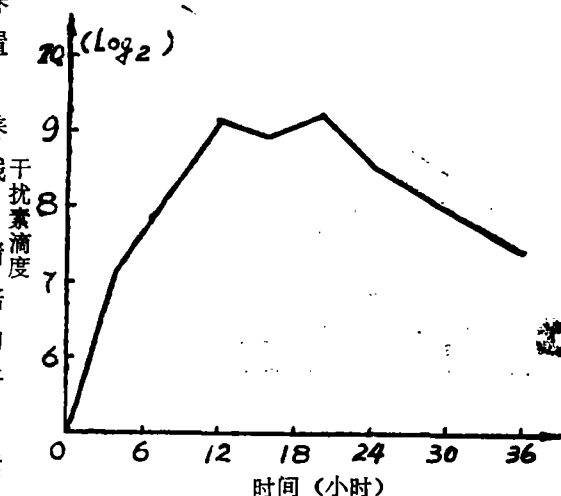


图1 干扰素产生曲线

(曲线为三次重复试验的平均值所绘制)

试验四 病毒剂量、营养液以及不同来源的细胞对干扰素产量的影响

病毒剂量、营养液以及不同来源的细胞都可能是影响干扰素产量的因素。为了寻找一组较适于诱生干扰素的条件, 采用了正交试验设计方法, 将需要试验的各个因素及不同的水平按正交试验表 $L_4(2^3)$ 的排列来安排, 每组试验的组合及结果见表3。

表3 正交试验方案及结果

试验号	因素	病毒 (HA单位/ml)	细胞	营养液	干扰素效价 ($\text{Log}_2 \text{CPEI}_{50}/\text{ml}$)			
					第一次 试验	第二次 试验	第三次 试验	平均值
1		64	脾细胞	LH*	7.498	5.920	8.042	7.153
2		64	血细胞	1640**	8.909	7.089	9.133	8.377
3		640	脾细胞	1640	8.928	7.920	8.495	8.448
4		640	血细胞	LH	8.079	6.341	8.309	7.576

* LH = 0.5% 水解乳白Hanks液, 含10%小牛血清。

** 1640 = RPMI1640 (Difco), 含10%小牛血清。

该试验结果通过直观分析法计算表明, 这三种因素对干扰素产量都有不同程度的影响。其中营养液的种类对干扰素产量影响较大 ($R = 1.048$), 其次为病毒剂量 ($R = 0.247$), 然后是细胞种类 ($R = 0.176$)。具体来说, RPMI 1640细胞培养液较0.5%水

解乳旦白Hanks液为好；病毒剂量大些较好，但对干扰素产量影响不大；血细胞与脾细胞培养对干扰素产量的影响差异很小，可以酌情采用。综合上述的结果分析，较适宜产生干扰素的组合应采用640HA单位/ml的NDV—F与血细胞或脾细胞作用，而以RPMI 1640作培养液。

试验五 干扰素特性测定

本试验对干扰素的主要生物学及理化特性进行测定：用胰旦白酶处理后（0.1%胰酶，37℃，pH7.2，1小时），干扰素活力消失；而在pH2.0，4℃中放置5天或经6℃，1小时处理，干扰素抗病毒活性稳定；置于透析袋里，在PBS中进行透析，证明干扰素分子不能通过透析膜；在鸡胚细胞上，表现出抗病毒特性，而且对几种不同的病毒均起抑制作用，但各种病毒对干扰素有不同敏感性（在所试验的三种病毒中，以VSV最敏感，IBDV次之，NDV对干扰素的敏感性最低）；在鸭胚细胞上，鸡白细胞干扰素不显示出抗病毒能力。综合上述的试验结果，本研究制取的抗病毒制剂具有与其他病毒诱导的干扰素相似的生物学及物理化学特性。这是一种耐酸、耐热的旦白质，在鸡胚细胞上则表现有广谱的抗病毒活性，但在鸭胚细胞上则不能抑制病毒的致细胞病变作用，说明这种抗病毒因子具有动物“种”的特异性。因此，可以认为，该抗病毒因子具有干扰素的一般特性。〔2〕〔5〕

试验六 干扰素的部份提纯

所用方法参照杨崇泰等〔4〕的介绍并加以改进。将粗干扰素制剂用6NHCl调至pH2.0，然后加入使最终饱和度为35%的灭菌的固体硫酸铵，边加边摇匀，完全溶解后置4℃过夜。次日以3000rpm离心20分钟，取其上清液，加入灭菌的固体硫酸铵至约70%的饱和度，用6N NaOH调至pH6.8左右，置4℃下过夜。又用3000rpm离心20分钟，弃去上清液。沉淀物用0.05M的PBS（pH6.0）溶解，并装进透析袋中，然后置4℃下，在0.05M的PBS（pH6.0）中进行透析，至完全去除铵离子为止（以奈氏试剂检查）。

采用该方法部份提纯干扰素的结果（见表4）表明，干扰素的平均回收率可达75.3%，干扰素的比活性从13.2单位/mg旦白提高到263.3单位/mg旦白，提高纯度平均为19.8倍。

表4 硫酸铵盐析法提纯鸡干扰素的结果

试验号	提 纯 前		提 纯 后				回收率 (%)
	IFN效价 (u/ml)	旦白含量 (mg/ml)	IFN比活性 (u/mg旦白)	IFN效价 (u/ml)	旦白含量 (mg/ml)	IFN比活性 (u/mg旦白)	提纯倍数
1	235	13.39	17.6	2339	6.58	355.5	20.2
2	100	11.41	8.8	1538	8.99	171	19.4
$\bar{x}$	167.5	12.4	13.2	1938.5	7.79	263.3	19.8

试验七 外源性干扰素对IBD的防治试验

将同批15天龄的白来航雏鸡（经检查证明没有IBD感染）随机分组，每组三只。试

验组的小鸡用本研究制取的浓缩的鸡白细胞干扰素腹腔注射（剂量为2000单位/只/次），在攻毒前或同时或之后开始，每隔6小时注射一次。对照组的鸡用脾细胞培养液（经检验不含干扰素）腹腔注射，从攻毒前6小时开始，每隔6小时一次，直至试验结束。用 10^{-3} 的IBDV强毒滴眼（剂量为0.1毫升/只）攻毒。各组试验鸡除第5组外，均在攻IBDV后50小时扑杀，取其腔上囊作病理学检查。各组的试验安排和试验结果见表5。

表5 干扰素防治IBD试验结果

组别	处 理	腔上囊病变情况			结 果
		1	5	3	
1	攻IBDV前6小时开始注射IFN。	正 常	轻 度*	正 常	明显保护
2	在攻IBDV的同时开始注射IFN。	轻 度	中 等**	中 等	减轻病变程度
3	攻IBDV后6小时开始注射IFN。	中 等	严 重***	正 常	没有明显的保护作用
4	攻IBDV对照组（攻毒对照组）。	严 重	中 等	严 重	
5	攻IBDV对照组（攻毒后6小时扑杀）	正 常	轻 度	轻 度	
6	健康鸡对照组。	正 常	正 常	正 常	

• 轻度：少数滤泡淋巴细胞减少，个别滤泡有网状细胞增殖。

• • 中等：约半数滤泡的淋巴细胞明显减少，网状细胞增殖，并见有固缩的核残屑。

• • • 严重：大多数滤泡中的淋巴细胞减少甚至消失，可见大量的网状细胞增殖，滤泡中央形成空腔。

试验结果表明，攻毒前6小时注射干扰素是能够引起明显的保护作用的（见图2），而在攻毒的同时注射干扰素，则只能减轻该病的严重程度（见图3），攻毒后6小时注射干扰素的则没有明显的保护作用（见图4），这就说明，在鸡体内，外源性干扰素能对IBDV的致病作用起一定的抑制作用。

试验八 其他

1. 病毒原液含干扰素的测定：将NDV—F，NDV—I，SDV和IBV原液调至pH 2.0，于4℃下作用5天。然后再调回pH7.2，接到鸡胚细胞上作用24小时，用VSV攻毒。结果表明，未能在这些病毒原液中检出干扰素的存在。该试验结果证明病毒原液本身不含可检测到的干扰素量。并说明这几种（株）病毒用该方法灭活后，不能诱导鸡胚细胞产生干扰素，从而可以排除灭活病毒对干扰素测定的影响。

2. 细胞的破坏影响干扰素产生的验证：将血细胞、脾细胞反复冻融三次后，加NDV—F进行培养，然后收集上清液，酸化、中和，测定干扰素效价。结果表明，没有干扰素产生，说明在病毒——细胞系统中，细胞被破坏即不能产生干扰素。也就是说干扰素是由正常的活细胞产生的。

3. 诱导剂对细胞产生干扰素的必要性的检测：按干扰素的制备方法，将没有加病

毒进行诱导的血细胞或脾细胞置37℃转鼓培养24小时。所收获的上清液中未能测出干扰素。这说明没有诱导剂的作用，鸡血细胞和脾细胞都不能自发地产生干扰素。

讨 论

本研究的试验结果表明：1. 本研究所用的病毒原液不含干扰素，而且酸化后灭活的病毒不能诱导鸡胚细胞产生干扰素；2. 用于测定干扰素的营养液不含干扰素；3. 不加病毒诱导的细胞不能产生干扰素；4. 破坏了的细胞不产生干扰素；5. 干扰素的产生曲线（见图1）符合病毒——细胞系统干扰素的产生动态^[10]；6. 在不同病毒——细胞系统中，产生干扰素的能力有所不同（表1）。从这些试验结果来看，可以排除试验材料本身含有干扰素的可能性。在整个诱导过程中，缺少某一因素或某一环节都不能产生干扰素。因此可以肯定，所获取的干扰素是由本试验建立的病毒——细胞系统产生的。从而排除“自然发生干扰素”（Spontaneous interferons）存在的可能性。

用干扰素预处理细胞后，导致干扰素产量明显下降。其原因可能有二种：1. 在干扰素预处理后，细胞已被“起动”（Priming）但错过了收获干扰素的时间而造成产量降低。有报道^[8]认为，被“起动”的细胞产生干扰素的高峰期比正常的提早出现。2. 在本试验的条件下，细胞可能被“封闭”（Blocking）有人认为^[12]大剂量的干扰素处理细胞后，可引起细胞处于“封闭”状态，从而降低干扰素的产量。然而，对于上述的两种可能性以及致使鸡脾细胞“起动”的最佳干扰素剂量，本试验还未能作明确的肯定，有待今后进一步的研究。

综合上述试验结果分析，初步得出结论认为：生产鸡白细胞干扰素的较适宜的条件为于每毫升鸡血液或脾细胞原液中加入128~160HA单位的NDV—F，在37℃水浴吸附1小时后，再加两倍量的RPMI 1640细胞培养液（含10%小牛血清，pH7.4）。然后在转鼓上37℃培养12~20小时，以3000rpm离心20分钟，取上清液酸化（pH2.0），置4℃下5天，再调回pH7.2左右，即为粗制的鸡白细胞干扰素。

本研究的结果证明了鸡血细胞或脾细胞在病毒的作用下，能够产生干扰素，从而为进一步研究鸡白细胞干扰素提供了依据。虽然由于各实验室所采用的干扰素测定方法不同而无法与其他的研究结果进行干扰素产量方面的比较，但可以认为，本试验建立的病毒——细胞系统所产生的干扰素效价还是比较低而生产成本则是较高的。在鸡体内，尽管外源性干扰素对传染性囊病有一定的防治效果，而要将干扰素应用到生产实际中仍然有很大的一段距离。但必须指出的是，鸡血液及脾脏来源丰富，如能解决上述的问题，可以相信，鸡白细胞干扰素是完全有可能大量生产的。因此，在今后的研究中，应考虑建立一个高生产性能的干扰素诱导剂——细胞系统。如寻找更好的干扰素诱导剂，研制较为经济的细胞培养液或代用品，继续探索干扰素“起动”活性的有效程序等，以提高干扰素的产量，降低生产成本，使鸡白细胞干扰素成为科学研究和临床应用所能接受的抗病毒制剂。

参 考 文 献

- [1] 王用椿等, 干扰素——鸡胚组织培养感染流行性乙型脑炎病毒的一种产物, 《微生物学报》, 12 (1) 1966, 95.
- [2] 中国科学院微生物研究所病毒学基本技术翻译小组译, (K. 哈伯尔, N. P. 萨尔兹曼编著。)《病毒学基本技术》, 214, 科学出版社, 1976年.
- [3] 中国医学科学院流行病防治研究所编, 1978, 《常见病毒病实验技术》, 148, 科学出版社, 1978年.
- [4] 杨崇泰等, 人脐血干扰素的研究. Ⅱ. 人脐血干扰素五种提纯方法的比较及人脐血干扰素若干性质的探讨, 《微生物学报》, (19) 1979, 96.
- [5] 侯云德编著, 《干扰素及其临床应用》, 11, 江苏科学技术出版社, 1981年.
- [6] 童葵塘等, 人外源性干扰素的研究 (人全血细胞干扰素诱生条件的研究), 《微生物学报》, (20) 1980: 440.
- [7] 殷震编著, 《动物病毒学基础》, 137, 吉林人民出版社, 1980第137页.
- [8] Abreu, S.L. et al. 1979. Interferon priming. *The Journal of Biological Chemistry*. 254: 4114.
- [9] Gresser, I. 1961. Production of interferon by suspensions of human leucocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 108: 799.
- [10] Ho, M., and M. K. Breinig. 1935. Metabolic determinants of interferon formation. *Virology*. 25: 331.
- [11] Isaacs, A., and J. Lindenmann. 1957. Virus interference. *Proc. Roy. Soc. Ser. B*. 147: 258.
- [12] Ito, F. and S. Kobayashi. 1974. Enhancing effect of interferon pre-treatment on interferon production. *Japan. J. Microbiol.* 18: 223.
- [13] Kolot, F. B. et al. 1976. Comparative production of interferon by explanted lymphoreticular tissue and alveolar macrophages from rabbits and humans. *Infection and Immunity*. 13: 63.
- [14] Peterhans, E. et al. 1976. Production of large quantities of interferon with calf testicular and leucocytes. *Res. vet. Sci.* 20: 99.
- [15] Rinaldo, C. R. et al. 1975. Viral replication and interferon production in fetal and adult ovine leucocytes and spleen cells. *Infection and Immunity*. 12: 1070.
- [16] Tarodi, B. et al. 1975. Physico-chemical characteristics of interferons induced by adenovirus in chick fibroblasts and leucocytes. *Acta virol.* 19: 393—400.

RESEARCH ON THE CHICKEN LEUCOCYTE INTERFERON

Cao Hanwei

(Department of Animal Husbandry and veterinary Medicine)

ABSTRACT

In the present study, chicken peripheral blood cells and spleencells were utilised for producing interferon in vitro. The influences of different virus species(strains), virus dosages as well as cell culture media on the production of interferon were compared. The interferon-production curves of the chicken leucocyte were made, and the effect of interferon-pre-treatment of the chicken spleen cells on interferon production was assessed. The purification method of interferon and the clinical use of interferon were also investigated.

The results obtained showed that of the four species(strains) of viruses(Newcastle disease virus F strain, Newcastle disease virus Mukteswar strain, Infectious bronchitis virus, Sendai virus) tested, NDV F strain possessed the strongest interferon-inducing ability,

The yield of interferon was scarcely affected by varying the dosages of viruses. In producing interferon RPMI 1640 medium was better than 0.5% lactalbumin hydrolysate Hanks' medium. In the NDV F strain induced chicken spleen cells, interferon was first detected during the 4th hour after incubation, and maximum interferon titres occurred during the 12th-20th hours after incubation. The interferon titres were obviously reduced by pre-treatment of chicken spleen cells with interferon. It was found that by salting out with ammonium sulfate, the purity of interferon was raised by 19.8 times and the average recovery rate of interferon was about 75.3%. Treating infectious bursal disease virus (IBDV) infected chicken with chicken leucocyte interferon showed that severity of lesions in the bursa fabricii was reduced. It would be suggested that interferon would have a prophylactic effect on avian infectious bursal disease.

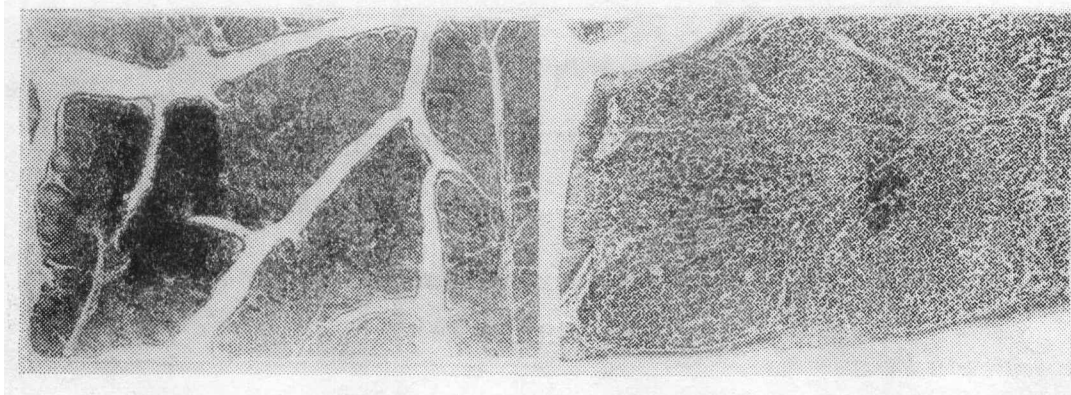


图2 第一组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)

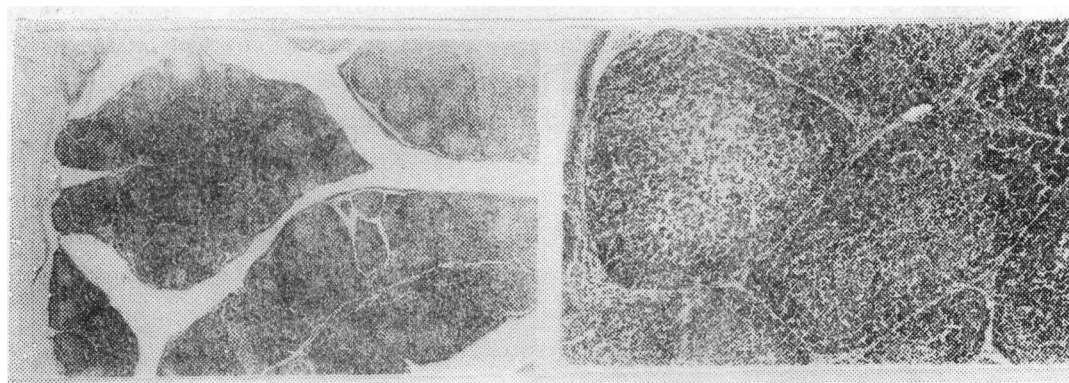


图3 第二组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)

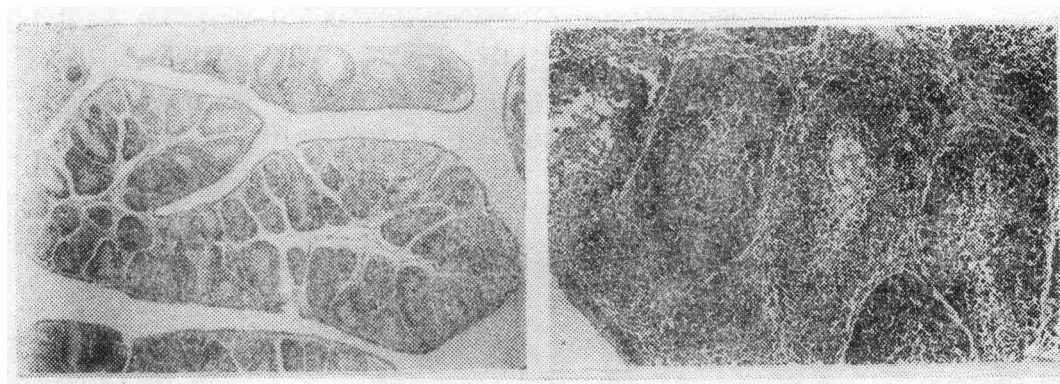


图4 第三组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)

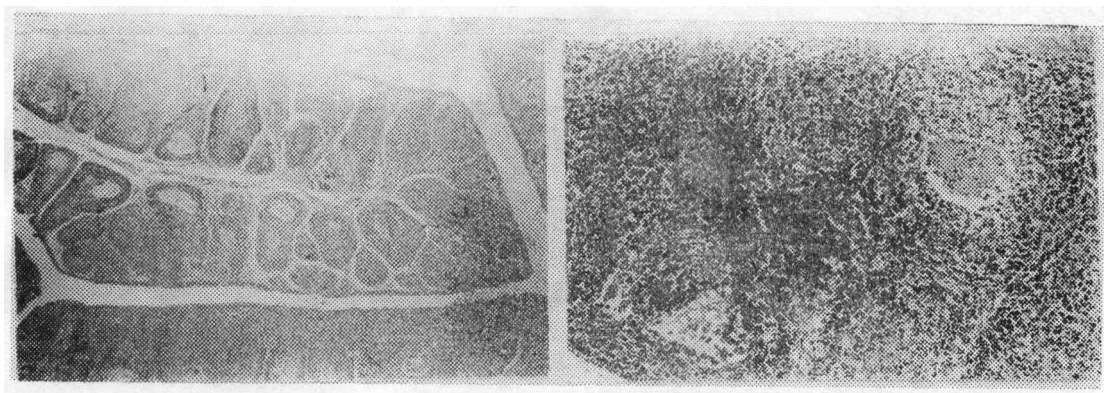


图5 第四组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)



图6 第五组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)

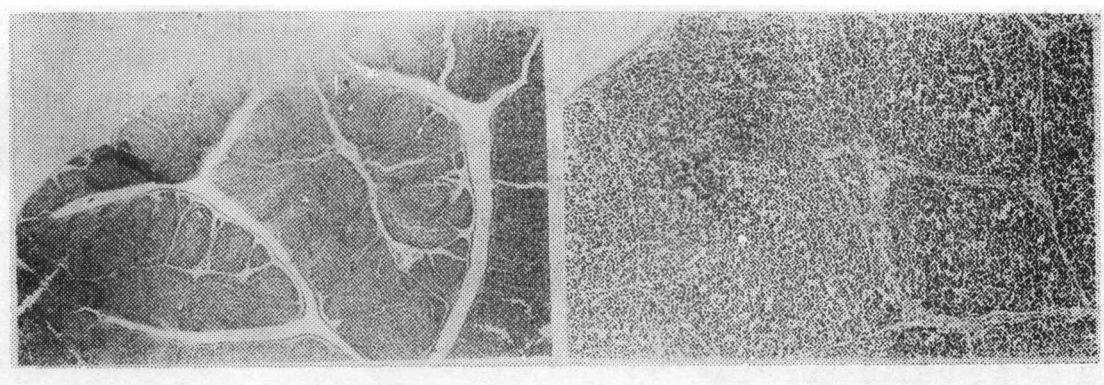


图7 第六组试验鸡腔上囊。H. E. 染色 (左图 $\times 20$, 右图 $\times 100$)