

鸡传染性喉气管炎病毒(ILT)形态发生的某些特征

丁明孝 马力 翟中和

(北京大学生物系, 北京)

向德林 唐桂运

(农业部兽医药品监察所, 北京)

本文报道鸡传染性喉气管炎病毒(以下简称 ILT 病毒)在鸡胚肾细胞内的形态与发生过程的某些特征, 重点描述了病毒毒浆结构, 核内特异的管状结构及其与病毒核壳体装配的关系。描述了细胞质内产生的一种管状结构和一种包含体结构, 并讨论了它们形成的可能机制与生理功能。

ILT 病毒属疱疹病毒属, 它的主要成分是在核内复制和装配的, 是一种典型的核内 DNA 病毒。关于其形态结构和繁殖过程, 国外已有不少报道, 但国内尚未见报道。我们用电子显微镜研究 ILT 病毒在鸡胚肾细胞内的形态发生时, 观察到宿主细胞内的某些特殊结构, 对这些特殊结构的进一步研究, 无疑将对病毒——细胞相互关系这一重要的理论课题有所补充。本文描述了 ILT 病毒形态发生的某些特征, 以及一些特殊结构的形态, 并对其形成机制和生理功能做了初步讨论。

材料与方 法

(一) 材料

1. 病毒

为农业部兽医药品监察所提供的 ILT 22 鸡胚化弱毒(滴度 $10^{4.5}$ EID₅₀/0.2ml), 在鸡胚肾细胞上经二次传代后, 细胞即出现明显的病变。将收获病毒液保存于 -20°C 冰箱中, 供本实验用。

2. 鸡胚肾细胞

取 18 日龄的鸡胚肾, 剪碎, 经胰酶消化分散后, 加入营养液(营养液成分: 乳液 40%; 199 液 45%; 犊牛血清 15%, pH7.0) 分装于培养瓶中, 于 37°C 静置培养, 约经 40 小时, 即可形成良好的

细胞单层。

(二) 方法

将适应于鸡胚肾细胞的 ILT 病毒接种到长成良好单层的鸡胚肾细胞上, 接毒后 72 小时, 细胞开始圆缩, 出现明显的 CPE, 此时, 先后用戊二醛(1.5%) 和四氧化钨(1%) 的 Hank's 液固定, 经丙酮脱水, 环氧树脂“618”包埋。切片指示厚度为 500—600 Å, 再用醋酸双氧铀、柠檬酸铅双重染色后, 于 HU H700、Philips、EM-400 等电子显微镜下观察。

结 果

在 ILT 病毒感染 72 小时的细胞单层中, 80% 以上的细胞内部可观察到处于不同发育阶段的病毒, 显然可以看出病毒对细胞的感染不是同步的。在细胞质空泡内有大量的成熟病毒颗粒。(图版 I-1)。

ILT 病毒核壳体的装配是在细胞核内进行的(图版 I-2、图版 II-3)。装配好的核壳体在穿过核膜时, 获得一层囊膜, 而后大量地聚集在细胞质的空泡中。成熟的病毒粒子呈圆形或卵圆形, 直径 190—240 nm, 核壳体的直径为 85—95 nm, 衣壳壁

本文于 1980 年 12 月 24 日收到。

厚度为 10—12 nm, 内部有较致密的核心, 病毒的囊膜与核壳体常不呈同心圆, 囊膜小体清晰可见(图版 I-1)。成熟的病毒随着宿主细胞的裂解, 大量地向细胞外释放。

ILT 病毒引起的明显的细胞病变是细胞融合, 经常可见到几个乃至几十个核的多核细胞 (Polykaryocytes)。与此同时, 核结构与细胞质结构也发生一系列的变化: 核膜皱褶, 染色质趋边化, 核质电子致密度降低, 核内与细胞质内包含体的出现等。关于 ILT 病毒的一般形态发生及宿主细胞的超微病变, 观察结果与文献报道的基本一致或类似。以下主要描述在 ILT 病毒形态发生过程中的几种较特殊的结构。

(一) 核内毒浆结构

毒浆结构是某些疱疹病毒和腺病毒等核内 DNA 病毒复制与装配的基质^[1]。它在 ILT 病毒感染的细胞中, 尤为明显, 而且具有独特的形态特征 (图版 I-2、II-3)。在切面上观察到的毒浆大小与形状不尽相同, 有的位于核中心, 有的紧倚核膜, 但在毒浆内部总是存在多个电子透明区, 这种部位显然是病毒核壳体装配的场所, 这里有很多直径为 32—37 nm 的“颗粒”状结构, 它们可能就是病毒 DNA 芯子, 还可见到装配好的核壳体。毒浆中核壳体的形态差异较大, 有的核壳体内壁附有 1—4 个颗粒状结构, 有的有一个直径为 45—50 nm 环状核心或电子致密的核心, 还有空心的衣壳, 这可能是处于核壳体装配的不同阶段, 有的也可能是有缺陷的核壳体。

由于 ILT 病毒感染的细胞其核基质电子密度较低, 毒浆结构与核基质的界线较分明, 所以毒浆结构较其它病毒的更为清楚, 因之, 病毒核壳体在毒浆内的发生过程也就表现的更为明显。

(二) 核内特异的管状结构

在 ILT 病毒感染的宿主细胞核内, 有

时可观察到一种与 ILT 病毒核壳体装配密切相关的管状结构(图版 II-4)。管状结构的外径为 65—75 nm, 中心有一条直径为 15—20 nm 的“细丝”, 其长短不一, 在切面上最长可达 800 nm。这种结构一方面与毒浆结构关系密切, 有的直接插到毒浆中, 同时它又与不同形态的核壳体交织在一起, 有时可见到它的末端与核壳体相接, 而这种核壳体又颇似管状结构的横切, 甚至还可见到管壁与核壳体相连, 这些现象在文献中曾有类似的记载^[4], 在后面将提出讨论。

(三) 细胞质内的“管状结构”

在 ILT 病毒感染的细胞质中, 出现一种“管状结构”(图版 II-5), 其直径约 80 nm, 壁厚 11—12 nm, 它与核内管状结构不同, 内部没有一条纵贯的纤维, 而是电子透明的空腔, 特别是这种管状结构常是规则地成束排列在一起, 在横切面上呈现晶格状排列, 非常类似病毒的衣壳。这种结构可能具有蛋白质性质, 对这方面的研究报道极少。

(四) 细胞质中特殊的包含体

在 ILT 病毒感染的细胞质中, 除常见的由大量的成熟病毒粒子聚集在细胞质的空泡中所形成的包含体外, 还可观察到一种较特殊的包含体, 它的外面包围有生物膜, 内部主要由直径 20—25 nm 的粗“线状”结构组成, 有的盘绕折叠很紧密, 有的又较松散。还可见到一系列过渡型结构。值得注意的是在每个包含体中, “线状”结构的折叠程度相同, 包含体的膜与其它空泡膜不同, 膜的层次非常清楚。

在未感染病毒的对照组细胞中, 均未见上述的结构。

讨 论

我们所研究的 ILT E2 株病毒的基本

形态及其发生过程与文献报道过的基本一致。

ILT 病毒形态发生的显著特征之一是它的明显的、具有独特形态的毒浆结构,因此也就可以更清楚地看到毒浆结构与病毒形态发生的关系, Reynolds 等人在研究 ILT 病毒感染的细胞核内的 A 型包含体的发育时^[5],曾观察到这种包含体是嗜碱的,可用 Feulgen 反应染色。如用吡啶橙染色时,在包含体中还可见到数目不等的、染色较深的不定形基质,但在病毒感染的晚期, Feulgen 反应染色较浅,吡啶橙染色的不定形基质也大为减少。这种“A 型”包含体的特征,与我们用电镜观察到的毒浆结构是非常符合的,因此我们认为 ILT 病毒的 A 型包含体可能就是电镜下的毒浆结构。

Sharma 等人在光镜下发现所有在 ILT 病毒感染晚期濒于裂解的细胞核中,核仁的染色非常明显^[6],这似乎与一般的疱疹病毒不同,而 Sharma 本人也难以解释这种现象。在电镜下,我们所见到的濒于裂解的细胞核中,并不存在典型的核仁,所见到的是大量的晚期毒浆结构,它们与核基质界限分明,有的外形与位置又颇似核仁。是否在病毒感染的晚期,随着核壳体的大量装配及其向细胞质内转移,毒浆结构中游离的 DNA 成分大大减少,其染色特点与核仁相似,而产生 Sharma 等人的观察结果呢?!

文献已有记载,在某些疱疹病毒发育过程中,常可观察到核内特异的管状结构。一种类似单纯疱疹病毒感染的细胞中所见到的较大的管状结构^[9];另一种类似于鸭瘟病毒的较小的管状结构。ILT 病毒所产生的管状结构属于前者,然而这种结构的本质和意义至今尚不清楚^[9]。Watrach 等人推测:它可能是 ILT 病毒纵向装配而产生的畸形病毒^[4],但我们认为这种结构在疱

疹病毒中具有一定的普遍性,因此 ILT 病毒的核内的管状结构究竟是畸形病毒,还是病毒发育的某一阶段,尚待进一步研究。

关于细胞质中特异的管状结构,至今未见文献报道,它们可能是一种畸形的病毒衣壳,因其直径与病毒衣壳相同,壁厚与衣壳壁厚相似,或许是在细胞质中合成的具有自我装配能力的衣壳,由于缺乏某些必要信息的指导,“错误”地装配成这种特异的管状结构。有人曾在鳟鱼传染性胰脏坏死病毒(一种 RNA 病毒)感染的细胞质中,观察到类似的结构^[11];我们认为,它们具有蛋白质性质,所以能呈现晶格排列,在另一篇有关鸭瘟病毒(另一种疱疹病毒)形态发生的报告中提出,我们观察到未装配的空心衣壳也经常呈晶格排列^[10]。

对细胞质中出现的一种包含体结构,虽未见报道,但从数量与形态上分析,我们认为最可能是病变细胞的吞噬泡与溶酶体结合的功能产物,内部是残渣小体,形成“奇妙”的景象,当然这种结构也可能与病毒的发生有关。

参 考 文 献

- [1] Hofstad, M. S. et al.: Disease of poultry. Iowa state university press, 505—512, 1978.
- [2] Cruickshank, J. G. et al., *Virology*, 20: 376—378, 1963.
- [3] Watrach, A. M. et al.: *Virology*, 21: 601—608, 1963.
- [4] Watrach, A. M. et al.: *Virology*, 18: 324—327, 1962.
- [5] Reynolds, H. A. et al.: *Avian Disease*, 12: 332—347, 1968.
- [6] Sharma, J. M. et al.: *Amer. J. Vet. Res.*, 30: 1843—1850, 1969.
- [7] Watrach, A. M. et al.: *Amer. J. Vet. Res.*, 20: 537—544, 1959.
- [8] 翟中和、丁明孝: 实验生物学报, 13: 485, 1980.
- [9] Amkinson, M. A. et al.: *J. Gen. Virol.*, 40: 103—119, 1978.
- [10] 翟中和、丁明孝等: 病毒学集刊, 2, (印刷中)
- [11] Moss, L. H. et al.: *J. Virol.*, 3: 52—58, 1969.

SOME ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS VIRUS IN MORPHOGENESIS

Ding Mingxiao Ma Li Zhai Zhonghe

(Department of Biology, Peking University)

Xiang Delin Tang Guiyun

(The Control Institute of Veterinary Bioproducts and Pharmaceuticals Ministry of Agriculture)

Some morphological and morphogenetic characteristics of infectious laryngotracheitis virus in permissive chicken embryo kidney culture cells were examined by means of electron microscopy. In particular, we described the viroplast and an unusual tubular structures with a filament

running through each tube in host nucleus. In cytoplasm, another kind of unique tubular structures without filaments and some peculiar inclusion bodies can be seen, these structures have never been reported. The possible mechanism of their formation and physiological function are discussed.