

呼吸道合胞病毒在类淋巴传代细胞内繁殖的形态学研究

钱澄怀 韩云亮 傅娟芳

(上海市卫生防疫站)

唐佩珠

(上海市第一医学院电子显微镜室)

将从上海市婴幼儿下呼吸道疾病患者中分离到的呼吸道合胞病毒(RSV),接种在国内“建株”的类淋巴传代细胞(SL)上,证实该株细胞对RSV敏感,病毒在细胞内繁殖可迅速形成广泛典型的融合细胞病变,特征明显,易于观察。但对RSV在SL细胞内繁殖所致的细胞病变情况还不了解,亦未见国内外有所报道。为此我们将RSV接种到SL细胞中,作电子显微镜及光学显微镜的形态学观察。

材料和方法

一、材料

1. 病毒株: 1977年冬—1978年春,从上海市婴幼儿下呼吸道疾病患儿中分离到的RSV,编号为R14、R17、R55。

2. 细胞培养: SL细胞为上海生物制品研究所的“建株”,本实验室传代。

3. 电子显微镜: 型号: 日立HU-11A, 电压: 50KV。

二、方法

1. RSV接种于生长第四天的SL细胞内,每隔8小时收取细胞,分别制作电子显微镜及光学显微镜标本观察。用正常细胞作对照。

2. 电子显微镜标本制作^[1]: 定时收取的细胞培养物用2.5%戊二醛及1%锇酸作双重固定。用微量培养细胞作环氧树脂618包埋,用LKB-I型切片机作超薄切片。并用醋酸双氧锇和枸橼酸铅双重染色。

3. 光学显微镜标本制作^[2]: 定时收取的细胞用甲醇固定,苏木紫—伊红染色。

结果

一、光学显微镜观察

1. 苏木紫—伊红染色标本: 细胞在接种病毒第二天开始出现融合细胞。随时间的增加,融合细胞逐渐扩展至整个细胞面,融合细胞浆为淡红色,蓝色的细胞核围绕在四周,呈花环状,核的数目不等,多者可达50个以上。胞浆中核附近有大小不一、形状多样的鲜红色包涵体,包涵体周围有空白光晕,融合细胞的大小由核的多少决定,形态不规则。病毒接种细胞后第4、5天,几乎整个细胞面都是大融合细胞(见封三图1、2)。

2. 未染色的活细胞标本: 融合细胞呈光亮的水珠状,立体感较强。这是由于细胞核环状在融合细胞周围,使细胞边缘光线较暗,其中部因无特殊结构而较光亮。由于病变细胞光亮、凸起,所以易于观察,易和正常细胞区别。

二、电子显微镜观察

病变细胞与正常SL细胞比较,病变细胞中可见到微细结构有规律性的改变,这种改变可归纳为以下几点:

1. 单个SL细胞经RSV繁殖形成融合体,一个融合细胞中含有数目不等的细胞核(见封三图3)。

2. 融合细胞浆内核近旁有包涵体样团块,按形态分为两种类型: 一种是结构疏松;另一种是电子密度较大的团块,边缘界限分明,与胞浆结构明显不同(见封三图4、5)。

3. SL细胞在接种RSV 8小时后,胞浆中近核旁出现类似副结晶包涵体样的团块,内

有排列整齐、边缘较模糊的颗粒,随着细胞接种病毒时间的延长,团块逐渐增多,随着病毒大量出现,团块逐渐减少(见封三图 6)。

4. 在扩大的内质池网中有成熟程度不同的病毒颗粒,也有空心衣壳,还有病毒“芽生”现象等(见封三图 7)。

5. 细胞表面及近旁,或细胞间隙中,有成熟的病毒丝状体(见封三图 8)和圆形病毒颗粒(见封三图 9),二者均有电子密度较深的核心,外包被衣壳及囊膜。丝状体的丝状核心呈螺旋状,外壳为管状,表面有放射形微小棘,病毒丝状体宽 60 毫微米,长 360 毫微米。圆形病毒颗粒直径约 60—80 毫微米。

6. 胞浆中的内质池网扩大,有空泡和液泡,胞浆中的细胞器有程度不同变性。

讨 论

RSV 对低温敏感,离体后易灭活,易失去对细胞的感染能力,对细胞的选择性亦较强。一般使用 Hep-2 细胞及 HeLa 细胞 Bristol 株培养病毒,未见到用类淋巴细胞培养分离病毒的报告。我们试用了国内“建株”的细胞培养分离 RSV,发现很敏感,并在病毒分离中对其它呼吸道病毒也有不同程度的敏感性。国外报道^[3],病毒感染细胞 10 小时后可检出病毒,细胞浆内亦可检测出病毒特异抗原。试验中我们观察到 RSV 接种 SL 细胞后 8 小时,核近旁细胞浆中开始出现类似副结晶包涵体样的团块^[4],由电子密度不均匀的圆形颗粒组成,大部分颗粒中心电子密度较大,周围电子密度不均匀,局部较

小(见封三图 6),颗粒直径 50 毫微米左右,比成熟病毒颗粒略小,推测可能是未成熟的病毒颗粒集聚一团。

RSV 在 SL 细胞中形成的胞浆内包涵体,与 Armstrong 等^[5]报道的 HeLa 细胞的包涵体形状相同,亦有两种类型:一种为松散的无定形团块(见封三图 4);另一种是致密团块,无明显的膜,在细胞核旁犹如副核(见封三图 5)。前者可能是后者的前体。电子显微镜标本和光学显微镜标本的包涵体出现时间相同,凡有病毒繁殖的单个细胞或 2、3 个细胞形成的小融合细胞都可能典型的包涵体。

在细胞表面及细胞间隙中,有大量成熟的圆形病毒颗粒或病毒丝状体。在扩大的胞浆内质池网中有成熟程度不同的病毒。在细胞膜及内质池网膜上都有病毒“芽生”成熟现象。病毒的形态和“芽生”成熟方式和副粘液病毒的特征相似^[6]。

感染 RSV 的 SL 细胞的核未见明显变化,这一点和一些学者的研究结果相同^[3]。

参 考 文 献

- [1] 上海第一医学院病理解剖教研组: 病理检验技术, 上海科学技术出版社, 404 页, 1978 年。
- [2] 上海市卫生防疫站: 卫生防疫检验(病毒检验), 上海人民出版社, 161 页, 1978 年。
- [3] Knight, V.: *Viral and Mycoplasmal Infections of the Respiratory Tract*, London, 1973, p. 133.
- [4] 李怀恩等: 微生物学报, 15(4): 357, 1975。
- [5] Armstrong, J. A. et al.: *Nature*, 196: 1176—1181, 1962.
- [6] Norrby, E. et al.: *Jour. Virol.* 6: 240, 1970.