

# 单纯疱疹病毒(I型)感染细胞核内的管状结构

楚雍烈

洪涛

(西安医学院病毒研究室) (中国医学科学院病毒所电镜室)

单纯疱疹病毒(HSV)是一种较大的DNA病毒,它在宿主细胞核内装配核壳体,同时使核内的超微结构发生病理改变<sup>[1]</sup>。对此种现象的研究,不仅有助于阐明HSV的致病机理,而且能为病毒和细胞相互关系这一病毒学基本问题的解决提供资料。我们对单纯疱疹病毒(I型)(HSV-1)感染细胞核内超微结构改变作了系统研究,观察到一些具有典型形态、比较少见的管状结构,现报道如下。

## 材料和方法

1. 病毒: (1) HSV-1MP株及13株: 均由美国芝加哥大学 Roizman 教授惠赠的实验室标准株。在原代兔肾(BRK)细胞传代培养,当50%单层细胞产生病变(CPE++)时收获,快速冻融三次,病毒液贮于-40℃备用。滴度分别为: MP株 $10^{6.0}$  TCID<sub>50</sub>, 13株 $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>。

(2) HSV-1T<sub>3</sub>株: 由医科院病毒所肿瘤室从病人病损处分离的野毒株,经鉴定确认为I型,滴度为 $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub> 病毒制备及保存同上。

2. 细胞: (1) 原代乳兔肾细胞(BRK),按常规制备<sup>[2]</sup>,三天后长成良好单层备用。

(2) 传代细胞 HeLa, Vero 和 Hep-2 三种细胞,均常规培养,传代<sup>[2]</sup>,成良好单层后备用。

3. 病毒感染细胞: HSV-1MP株和13株分别感染上述四种细胞,HSV-1T<sub>3</sub>株感染BRK细胞,其方法如下: 以 $10^{6.000}$  TCID<sub>50</sub>病毒量进行接种,37℃吸附一小时, Hank's 液洗三次,加含5%小中血清、1%青、链霉素的 Eagle 维持液,放37℃孵育,逐日观察CPE,分别在感染4、8、24和36小时取材。各感染系统均设正常细胞对照。

4. 电镜标本制备: 各感染系统及正常细胞

取材均按常规处理<sup>[3]</sup>。细胞悬液1500 rpm离心15分钟,用1%戊二醛在4℃将细胞团块固定30分钟, PaLade 缓冲液漂洗后1% OsO<sub>4</sub>后固定,丙酮序列脱水,树脂618或812包埋,经LKB超薄切片机制片,醋酸氧铀和枸橼酸铅双染色后,在JEM-100B电镜下观察照相。

## 结果和讨论

对各系统不同感染阶段的标本做了动态、比较观察,在感染24小时(CPE++)以上的诸标本中,均程度不等的看到以下几种核内管状结构。

### 一、核内微管样结构(图1、2、3、4)

感染细胞核基质中出现成束状排列的管样结构,形似微管。其长短不一,多少不等,有的甚至纵贯核的长轴,有的迂曲、折叠,甚至成团堆积。值得注意的是: (1) 在这些微管样结构出现时核膜并无消失。(2) 它们常和HSV核壳体交织在一起,有明显的伴随关系。局部放大图象显示,平行束由近似平行的微管组成。每条管线似由粒状物质构成,直径约19—22(nm),两管线间距约27—30nm。

### 二、核内网格样结构(图5)

HSV-1感染细胞核中有时尚可见到有多个菱形排列的网格样图案,大多排列整齐、结构清晰,网孔平均直径约20nm,每4个网格组成的间距孔径约30nm。有的网格样结构模糊,似和制片的切向效应有关。网格结构多聚集在一起,周围亦有HSV核壳体伴随。

### 三、核内实心小管(图6)

在感染细胞核的周边部,有时在凝聚的染

中国医学科学院病毒所电镜室全体同志给予协助,特此致谢。

色质附近可观察到一团长短不一、走向不同的实心管样物,同时杂有散在的圆形横断面。小管直径约 28nm,呈交错分布。

#### 四、核内空心样小管(图 7)

在感染细胞核基质中还见到一种长短不一的小管状结构,它由两条平行线组成,管腔中有少量无定形物,外径约 65—70 nm,有的还呈环状排列。此种小管似中空状,直径较大,但不多见。

细胞核内呈现管状结构的现象已为许多形态学家所关注。文献中曾记载在 HSV-2 感染细胞核中见到核内微管样结构及网格样结构<sup>[4,5]</sup>,在其他病毒感染的细胞核内也曾发现类似结构<sup>[6,8]</sup>。但尚无在 HSV-1 感染细胞核中发现管状结构的报道。我们反复观察的结果显示,HSV-1 感染细胞核中出现多种管状结构,(1)微管样结构,(2)实心小管,(3)空心小管样结构。其中实心小管样结构在核中的出现,文献中尚未见有过描述。依据大小,管腔直径和网格结构的不同形态特点,我们认为网格结构是束状微管的横断面的推论<sup>[5]</sup>是有道理的。

反复地对比观察表明,在正常对照细胞核中均未发现上述几种管状结构。这些结构在不同毒株感染的不同细胞核中均出现,提示它们和 HSV-1 感染有关并具有普遍性。考虑到核内管状结构是伴随病毒感染而出现,而且多与 HSV-1 核壳体关系密切,它们和 HSV-1 形态发育的关系很值得研究。有人认为某些病毒感染

细胞核内管状结构具蛋白质性质<sup>[5,6]</sup>,并提出它们可能是病毒结构蛋白的畸形排列所致<sup>[9]</sup>。

近年来细胞骨架的研究有了较大的进展<sup>[10]</sup>。病毒感染细胞后,细胞骨架系统发生改变,而细胞骨架系统又与病毒在感染细胞中的运动、转移和释放密切相关。所以,核内上述管状结构是否是病毒感染导致细胞骨架系统的病理改变也值得考虑。

病毒感染宿主细胞的过程实际上是病毒和细胞相互作用的结果。我们认为通过两者的相互作用,一方面表现为病毒的增殖,另一方面细胞本身也发生功能和形态结构上的改变,对病毒感染作出反应。HSV-1 感染细胞核内的管状结构正是这两个过程相互作用的产物,对此现象的深入研究将是很有意义的。

#### 参 考 文 献

- [1] Kaplan, A. S.; *The Herpesviruses*, P1—216 Academic Press. New York. 1973.
- [2] 中国医学科学院流行病学研究所编: 常见病毒病实验技术,第一版,第 66—75 页。科学出版社,北京,1978。
- [3] 洪涛主编: 生物医学超微结构与电子显微镜技术,第一版,第 103—211 页。科学出版社,北京,1980。
- [4] Murphy, F. A. et al.: *Arch. ges. Virusforsch* 21: 463, 1967.
- [5] 小田彦: 细胞,14(5): 14, 1982。
- [6] Atkinson, M.A. et al.: *J. Gen. Virol.* 40:103, 1978.
- [7] Cauch, E. F.: *J. Virol.* 3: 228, 1969.
- [8] 丁明孝,崔中和: 微生物学报,22(4): 384, 1982。
- [9] Watrach. A. M. et al.: *Virology* 18: 324, 1962.
- [10] 曾弥白: 细胞生物学杂志,2: 1, 1981。