

流行性出血热病毒感染乳小白鼠的 病理组织学与病毒抗原定位研究

郭广松 肖红^{*} 程丽^{*} 文莉^{*} 杨占秋^{*}

(湖北医科大学病理学教研室, 武汉 430071)

^{*}(湖北医科大学病毒研究所, 武汉 430071)

关键词 病毒抗原, 流行性出血热, 乳小白鼠, 病理变化 **病理**

R512.802

Huggins (1986年)等观察了来自黑线姬鼠的病毒(76-118株)感染乳小白鼠的病理组织学变化及病毒在脑组织中的分布^[1,2], 本实验观察了来自流行性出血热患者的EHFV对感染乳小白鼠的组织病理学变化和病毒抗原定位分布, 现报告如下:

材料与方 法

- 1 动物 昆明种三日龄乳小白鼠购于中国科学院武汉病毒所。
- 2 病毒 EHFV-114株为本校病毒所从EHF急性期患者尿液中分离^[3], 感染滴度为100LD₅₀/0.1ml。
- 3 感染方法 病毒采用脑内直接注射, 每只0.02至0.03ml, 共67只, 11只对照鼠用磷酸缓冲液同前法注射。
- 4 单克隆抗体 EHFV McAb A25-1购于中国预防医学科学院病毒所, 由陈伯权教授提供。
- 5 免疫荧光检查 采用直接免疫荧光法^[4], 荧光显微镜观察结果, 感染组织中显示黄绿色荧光颗粒为病毒抗原阳性, 桔红色为阴性。
- 6 病理学检查 取乳小白鼠的新鲜脑、心、肺、肝、脾、肾脏等组织, 用10%福尔马林液固定, 常规切片光镜观察。少数脑组织新鲜标本经2.5%戊二醛及1%锇酸双固定逐级脱水、包埋、半薄切片光学定位, 超薄切片用醋酸铀及枸橼酸铅染色, 日立H-600透射电镜观察。

结果与讨论

- 1 感染鼠的一般特征 乳鼠脑内感染病毒后, 表现为发育迟缓、体重下降, 感染病毒后1-10天, 平均体重为3.2克, 而未感染的正常鼠为4.6克。感染后第2周开始出现症状和体征, 如: 耸毛, 高反应性, 肢体瘫痪, 尾强直, 感染鼠在症状出现后2-3天衰竭死亡, 所有感染鼠均病死, 未感染鼠未见发病症状, 无一死亡。
- 2 病理学变化 光镜下感染鼠脑组织水肿见弥散性小静脉、毛细血管扩张充血(图1a), 小血管间隙增宽, 胶质细胞小灶状增生(图1b), 部分神经细胞变性。肺组织为散在出血灶、肺泡间隔小血管充血扩张(图2)。肝细胞胞浆松亮(图3)。肾小管上皮水样变性, 肾曲管腔内有管

* 本文于1993年1月13日收到, 10月29日修回

型(图4)。脑组织神经细胞浆内粗面内质网、高尔基氏器及线粒体扩张,脑海马回区神经细胞浆内见病毒颗粒(图5b)具有双层膜结构,大小约为90nm。

3 病毒学检查 免疫荧光对组织病毒抗原的定位检测发现脑、肺、肝、肾等脏均查出特异性的病毒抗原阳性荧光颗粒,脑组织中病毒抗原主要集中在海马回区的脑神经细胞浆内,阳性荧光颗粒多。肺组织表现为肺泡上皮细胞浆内,阳性荧光颗粒多。肾组织的阳性荧光颗粒存在于肾小球毛细血管和曲管上皮细胞浆内。其余脏器荧光颗粒较弱,对病毒抗原的定位发现,集中在胞浆并且以颗粒状荧光灶多见,亦见斑块状荧光灶(图6)。



图1 脑小血管扩张

图3 肝细胞水样变性

图5 脑组织超微结构:

a、多泡体. b、病毒颗粒

图2 肺泡间隔血管扩张、出血

图4 肾曲管水样变性、管型

图6 EHF病毒感染鼠脑的免疫荧光

Fig. 1 Cerebrovascular expansion. HE $\times 150$

Fig. 3 Liver cell hydropic degeneration. HE $\times 150$

Fig. 5 Ultrastructure of brain tissues. $\times 200000$

Fig. 2 Lung vascular extravasated expansion and hemorrhage. $\times 150$

Fig. 4 Renal tubules hydropic degeneration. HE $\times 150$

Fig. 6 Immunofluorescence of the suckling mice brain infected with EHF virus.

4 由于流行性出血热病毒的分离成功,使得对该病的发病机制及致病性研究成为可能。已有报道表明,家兔感染流行性出血热病毒后可出现病毒血症,并在其内脏检出病毒抗原和抗体

反应,但家兔感染后不出现症状和体征,无发病指征^[5,6],因此家兔不是研究 EHFV 致病的理想模型。Huggins 等报道,乳小鼠可作为评价抗 EHFV 药物的模型,因乳小白鼠感染病毒后有规律地发病、死亡^[1],但作者所用的病毒源于动物(黑线姬鼠),人源性的 EHFV 对乳鼠是否有致病作用,目前还未见报道。作者用此种源于 EHF 早期患者的 EHFV 感染乳小鼠,引起动物发病有规律性地出现症状、体征、死亡,并在感染动物体内查出病毒,这不仅说明人源性 EHFV 感染乳鼠有致病性,且进一步说明乳鼠是 EHFV 的敏感动物。因此,也可用人源性 EHFV 感染乳小鼠进行致病性研究和抗病毒药物筛选。本实验发现病理变化以脑、肺、肾组织最明显,这和病毒抗原主要集中在脑、肺、肾脏的组织是一致的,且病理变化的特点是受损脏器的组织小血管充血、出血,这与流行性出血热患者的病理变化基本相似。综上所述可看出人和动物的组织病理学损害及其病变部位颇为相似。因此,利用乳小鼠感染人源性 EHFV 对 EHF 的系统研究是有价值的。

参 考 文 献

- 1 Huggins, Kim GR, Brand OM. Ribavirin therapy for Hantaan virus infection in suckling mice. *J Infect Dis.* 1986; 153: 489
- 2 McKee KT Jr, Kim GR, Green DE, et al. Hantaan virus infection in suckling mice. *J Med Virol.* 1985; 17: 107
- 3 杨占秋, 宋宝莲, 张美英, 等. 流行性出血热患者血浆和尿液中 EHFV 的分离与鉴定. *湖北医学院学报.* 1988; 9: 301
- 4 陈伯权. 应用 EHFV 单克隆抗体检测病人白细胞中 EHFV 抗原的初步研究. *中华微生物学与免疫学杂志.* 1985; 5: 82
- 5 彭红枚, 林雨霖, 高又新, 等. 感染流行性出血热病毒家兔病毒血症的研究. *病毒学杂志.* 1990; 5(4): 373
- 6 蒋文玲, 林雨霖, 向近敏, 等. 家兔感染流行性出血热病毒后特异性 IgG 和中和抗体动态. *实验和临床病毒学杂志.* 1988; 2: 25

Observation of Pathological and Viral Antigen of Epidemic Hemorrhagic Fever Virus Infection in Suckling Mice

Guo Guangsang Xiao Hong Chen Li *et al*

(Hubei Medical University, Wuhan 430071)

Epidemic hemorrhagic fever virus originated from patients with epidemic hemorrhagic fever was inoculated into suckling mice. The results showed that the suckling mice died regularly. The viral antigen and pathological damage appeared in the brain, lung, liver and kidney. The characterization of pathological changes were congestion, hemorrhage and degeneration of blood vessels. The viral particles can be found in hippocampus region. The viral antigen can be detected in cytoplasm. The results suggest that suckling mice were susceptible for human original epidemic hemorrhagic fever virus.

Key words Viral antigen, Epidemic hemorrhagic fever, Suckling mice, Pathological damage