维普资讯 http://www.cqvip.com

第16卷2期 中国病毒学 16(2): 135－139
2001年6月 VIROLOGICA SINICA Jun. 2001

水痘-带状疱疹病毒地方分离株在兔脑神经细胞中的形态与形态发生特征

宋艳艳，王志玉，王桂亭，许洪芝

(山东大学公共卫生学院病毒学研究室，山东济南 250012)

Morphology and Morphogenesis of the Isolated Varicella-Zoster Virus in Rabbit Brain Nerve Cell

SONG Yan-yan, WANG Zhi-yu, WANG Gui-ting, *et al*.

(*Dept. of Virology, School of Public Health, Shandong University, Jinan* 250012, *China*)

Abstract: To Investigate the morphology and morphogenesis of the isolated varicella-zoster virus (VZV) in rabbit brain nerve cell (RNC), ultrathin section electron microscopy was used for study. A small number of nucleocapsids were observed in the nuclei of RNC at 6 h post infection. A large number of necleocapsids were seen in the nuclei and cytoplasm at 12 h post infection, and the peak was at 24 h, but enveloped virions were rarely seen in the nuclei and cytoplasm. The virions were spherical. Cores, necleocapsids and enveloped virions are 30～50 nm, 74～96 nm and 110～180 nm in diameter respectively. There were three kinds of nucleocapsids with electron dense, particle and empty cores. Electron dense body-like core and plate structure were observed both in nuclei and cytoplasm. "Replication complexes" composed of vacuoles enveloped by membrane was seen in the cytoplasm. These results indicated that $VZVJ_1$ showed different morphogenesis in RNC and other cells.

Key words: Varicella-zoster virus; Morphology; Rabbit; Brain nerve cell; Electron microscopy

摘要：为阐明水痘－带状疱疹病毒济南分离株($VZVJ_1$)在兔脑神经细胞(RNC)中的形态与形态发生特征，我们利用超薄切片电子显微镜技术对感染 $VZVJ_1$ 的 RNC 进行了观察研究。结果表明：RNC 在感染 $VZVJ_1$ 6 h 后核内可见散在的核衣壳，12 h 后细胞核和细胞质内核衣壳明显增多，24 h 达高峰，而细胞核和细胞质内的成熟病毒颗粒较少见。病毒大小、形态基本一致，呈圆形或椭圆形，核心直径 30～50 nm，核衣壳 74～96 nm，成熟病毒 110～180 nm。核衣壳内有 3 种类型的核心，即电子致密核心、部分致密核心和电子透明核心。细胞核和细胞质内均可见核心样电子致密体和布纹样结构。在细胞质内还可见少量"繁殖复合体"，由膜性结构包绕多个囊泡构成。提示 $VZVJ_1$ 在 RNC 中的形态发生不同于其它性质的细胞。

关键词：水痘-带状疱疹病毒(VZV)；形态学；兔；脑神经细胞；电子显微镜检查

中图分类号：R373.1 **文献标识码：**A **文章编号：**1003-5125(2001)02-0135-05

水痘-带状疱疹病毒(Varicella-Zoster Virus, VZV)是人类重要的致病病毒之一，除了能引起水痘-带状疱疹外，还可导致脑炎和先天性感染。对 VZV 地方分离株在神经细胞中的形态和形态发生进行细致的研究，有助于阐明 VZV 的繁殖和致病机理，从而更好地指导 VZV 感染的诊治和预防。

收稿日期：2000－05－08，修回日期：2000－11－09

作者简介：宋艳艳(1963－)，女，山东省文登市藉，讲师，硕士，主要从事病毒病防治的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

迄今为止，VZV形态和形态发生的研究报道较少[1~3]，而在神经细胞中的复制情况尚未见报道。我们用超薄切片电子显微镜技术对本室分离的济南株($VZVJ_1$)在兔脑神经细胞中的形态和形态发生进行了研究。

1 材料与方法

1.1 病毒

$VZVJ_1$ 株由本室分离[4]，在 Hep-2 细胞上传代，反复冻融3次，4 000 r/min，4℃下离心15 min，取上清备用。

1.2 细胞

原代乳兔脑神经细胞(Rabbit Nerve Cell, RNC)按本室建立的方法进行培养[5]。

1.3 试剂

胰岛素为上海生化制药厂产品。大白鼠颌下腺浸出液由本室自制。

1.4 标本收集

取滴度为 10^6TCID_{50}/mL 的 $VZVJ_1$ 悬液 0.5 mL 接种于生长良好的 RNC 单层，加足维持液，37℃培养，分别于感染后 0, 6, 12, 24, 48 h 取出，弃维持液，加入2.5%戊二醛固定，4℃保存备用。

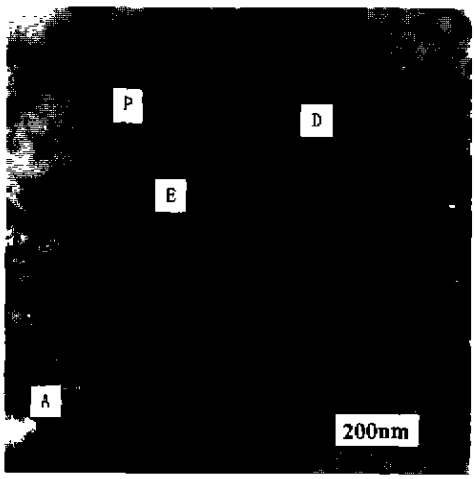
1.5 超薄切片的制备及观察

各时间收集的标本用 PBS 洗涤后，用锇酸固定，逐级乙醇脱水，用 Epon 812 树脂包埋，超薄切片，切片厚度为 50 nm。常规染色，于 JEM-1200EX 电镜下观察，拍照记录。

2 结果

2.1 $VZVJ_1$ 的形态结构

在感染 $VZVJ_1$ 的 RNC 内可见大量的核衣壳(见图1)和极少量有包膜的完整病毒(见图2)。病毒的大小和形态结构基本一致，为圆形或椭圆形，核心直径 30～50 nm，核衣壳 74～96 nm，完整病毒 110～180 nm。



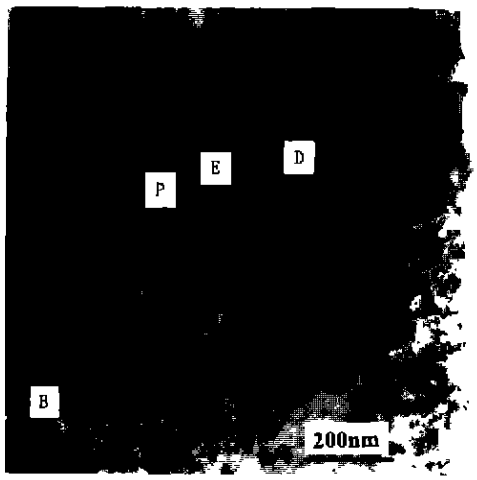


图1 RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h

细胞核(A)和细胞质(B)内可见三种核衣壳，即具有电子致密核心(D)、颗粒状核心(P)和透明核心(E)的核衣壳。

Fig 1 RNC infected with $VZVJ_1$ for 24 h.

In nuclei (A) and cytoplasm (B), nucleocapsids were seen with three kinds of cores that are electron dense (D), particle (P) and empty (E) cores.

VZVJ1 表现为三种类型的核衣壳，分别命名为D、P和E型核衣壳。D型具有电子致密核心，核心形态大小差异较大，呈条形、斑点状等不规则形；P型具有颗粒状核心，颗粒多少不一，多数为3～9个，核心大小形态较一致，电子密度低于D形；C型具有电子透明核心，似无核心核衣壳。此结果与王志玉等[2,6]的观察结果基本相同。

2.2 $VZVJ_1$ 在 RNC 内的分布

在感染的神经元和胶质细胞中均可见到病毒颗粒，以胶质细胞内的病毒颗粒明显增多，细胞核和细胞质内均可见大量核衣壳和极少量的成熟病毒，以及包装不完整的病毒颗粒(见图3)。但未见细胞外

维普资讯 http://www.cqvip.com

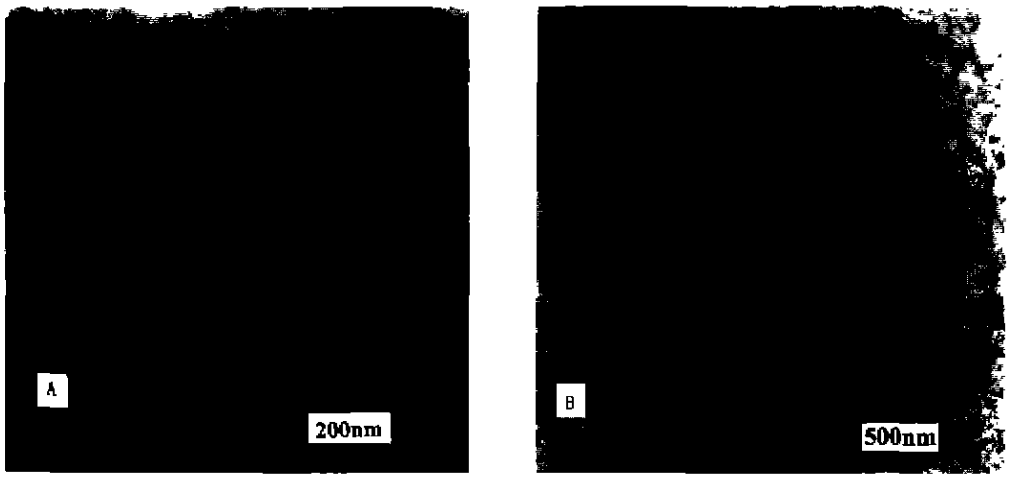


图2　RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h
细胞核(A)和细胞质(B)内可见核心致密的完整病毒(箭头)
Fig 2　RNC infected with VZVJ1 for 24 h
Nuclei (A) and cytoplasm (B) showed enveloped dense-cored capsids (arrow).

包膜病毒。细胞核内的病毒量高于细胞质，且细胞核内D型核衣壳所占比例(约17%)低于细胞质内(约36%)。细胞核和细胞质内的病毒颗粒有一定的聚集性，尤以细胞质内更为突出。大多数细胞核切面均可见病毒颗粒，少数细胞质切面可见聚集的病毒。

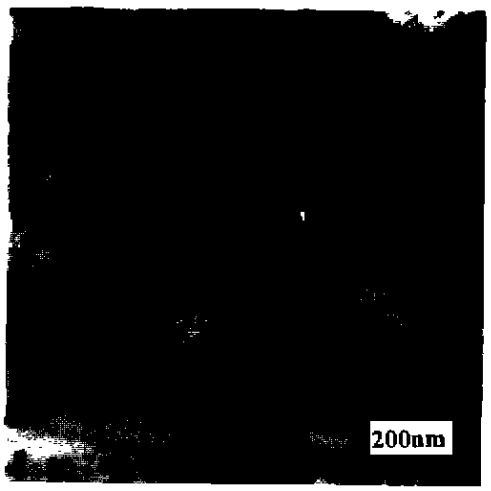


图3　RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h
细胞核内可见不完整包膜病毒(箭头)。
Fig 3 RNC infected with $VZVJ_1$ for 24 h
Incomplete enveloped virions were seen in nuclei.

2.3　$VZVJ_1$ 的形态发生过程

$VZVJ_1$ 感染RNC 6 h后，细胞核内可见散在的病毒颗粒，12 h开始增多，24 h达高峰。可见少数病毒通过核膜和空泡膜获得包膜(见图4)。在细胞核内可见大量的布纹样结构和电子密度与病毒核心相似的电子致密体，其周围的病毒颗粒也增多(见图5、6)。胶质细胞质内也可见少量类似的布纹样结构和核心样电子致密颗粒，但神经元细胞质内很少见。

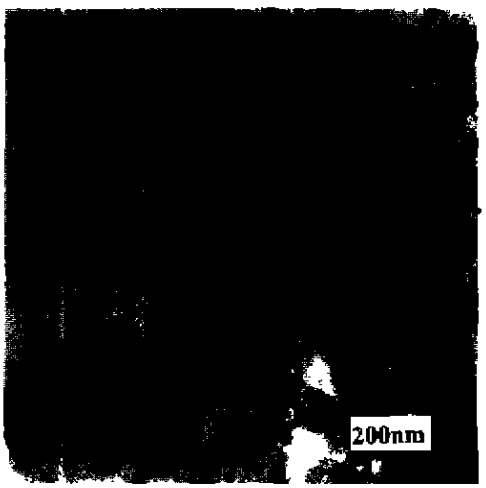


图4　RNC感染 $VZVJ_1$ 24h
细胞核内可见空泡膜正在包裹D型核衣壳(箭头)。
Fig.4 RNC infected with VZVJ1 for 24 h
Dense-cored capsid is being surrounded
by vacuolar membrane (arrow)

维普资讯 http://www.cqvip.com

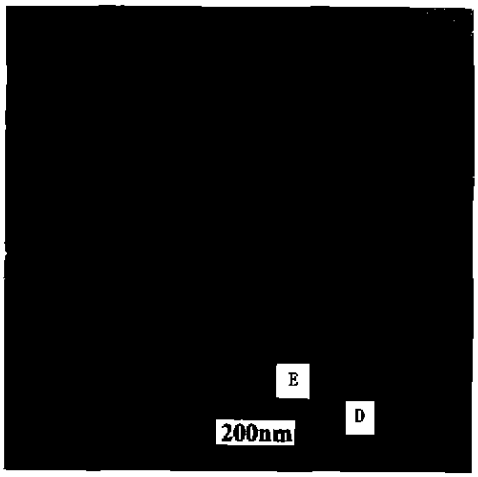


图5 RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h
细胞核内可见布纹样结构(箭头),其周围有D、P、E型核衣壳。
Fig.5 RNC infected with $VZVJ_1$ for 24h
Plate structure (arrow) with capsids type D, P and E were seen in nuclei.

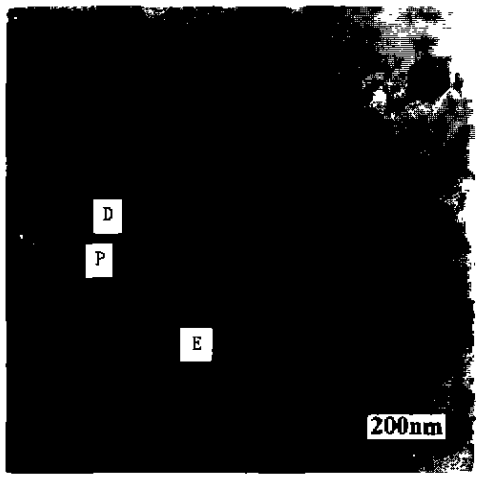


图6 RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h
细胞质内可见核心样电子致密体(箭头),其周围有D、P、E型核衣壳。
Fig.6 RNC infected with $VZVJ_1$ for 24 h
Eelectron dense body-like core (arrow) with capsids type D, P and E were seen in cytoplasm.

在胶质细胞质内还可观察到由膜性结构包绕多个囊泡构成的"繁殖复合体",且其周围可见许多核衣壳(见图7)。

图7 RNC感染 $VZVJ_1$ 24 h
细胞质内可见"繁殖复合体",由膜性结构(长箭头)包绕多个囊泡(短箭头)构成。
Fig.7 RNC infected with $VZVJ_1$ for 24 h
"Replication complex" composed of vacuoles (short arrows) enveloped by membrane (long arrow) could be seen in cytoplasm.

3 讨论

$VZVJ_1$ 可在多种细胞中增殖,并可引起明显的细胞病变,而且Croen等[7]在脊髓后根神经节和三叉神经节的神经元和卫星细胞中发现了VZV DNA,但其在神经细胞中的形态和形态发生如何尚一无所知。

本研究结果表明,$VZVJ_1$ 可在RNC中增殖,且胶质细胞比神经元更为敏感。随着感染时间延长,病毒颗粒逐渐增多,24h达高峰。病毒颗粒主要以核衣壳形式存在,而成熟病毒颗粒较少、也未见由胞浆膜芽生现象,此与其在PRK细胞中的特点相似、但明显不同于其在Hep-2细胞中的形态发生[1]。

3种类型的核衣壳在细胞核和细胞质中的分布有一定差异、那么不同核心类型的病毒,其化学组成和含量及感染性是否也存在一定的差异,尚待进一步验证。

在感染 $VZVJ_1$ 的RNC胶质细胞核和细胞质内均存在核心样电子致密体和布纹样板层结构,其周围常伴有不同发育阶段的病毒颗粒,提示 $VZVJ_1$ 除了在RNC细胞核中装配外、是否还存在细胞质内装配的途径,尚需对此结构的来源和功能作深入的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

另外,在感染 $VZVJ_1$ 的胶质细胞质内可见"繁殖复合体",此现象也见于感染风疹病毒的 BHK_{21} 和 Vero 细胞中[6,8],但对 $VZVJ_1$ 而言,尚未见报道,其形成过程及其意义有待进一步研究。

参考文献

[1] 王志玉,王桂亭,韩世杰,等.水痘-带状疱疹病毒地方株的形态与形态发生[J]. 山东医科大学学报, 1993, 31(3):212.

[2] 王志玉,王桂亭,韩世杰,等.水痘带状疱疹病毒分离株核衣壳的形态特征[J]. 中国病毒学, 1993, 8(1):215.

[3] Shiraki K and Takahashi M. Virus particles and glycoproteins excreted from cultured cells infected with varicella-zoster virus (VZV)[J]. J Gen Virol, 1982, 61:271.

[4] 韩世杰,姚苹,裴忠发,等.水痘带状疱疹病毒的分离[J] 山东医科大学学报, 1990, 28(1):22

[5] 王志玉,姚苹,宋艳艳,等.风疹病毒在原代兔脑神经细胞中的增殖[J]. 预防医学文献信息, 1996, 2(3):257.

[6] 王志玉,宋艳艳,姚苹,等.风疹病毒分离株在 BHK_{21} 细胞中的形态与形态发生[J]. 中国病毒学, 1996, 11(4):343.

[7] Croen KD, Ostrove JM, Dragovic LJ, *et al*. Patterns of gene expression and sites of lateney in human nerve ganglia are different for Varicella-Zoster and Herpes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(24): 9723.

[8] Lee Y, Marshall A, Bowden DS. Replication complexes associated with the morphogenesis of rubella virus[J] Arch Virol, 1992, 122:95.