

# 感染鸭乙型肝炎病毒的麻鸭肝细胞电镜观察

陈佩兰 李琳 刘超英 陈良标

(北京军区总医院 全军肝病研究所 北京 100700)

**摘要** 应用电镜技术,对 15 只 DHBV 感染阳性麻鸭肝组织进行了观察。结果显示:80% (12/15) 的鸭肝组织内糖原异常丰富。全部鸭标本均检出了 DHBV 颗粒,血清病毒滴度高者肝细胞内病毒含量及受感染的肝细胞明显增多。在异常改变的肝细胞内 RER 和线粒体等细胞器减少。同时可见 RER 扩张、线粒体肿胀或凝集。常见胞质空泡变性。相关分析表明:肝细胞超微病理改变与 DHBV 感染显著相关。

**关键词** 麻鸭 肝细胞 DHBV 超微结构

流行病学调查证实,我国不同鸭种中,麻鸭 (*Anas domestica*) 鸭乙型肝炎病毒 (DHBV) 自然感染率最高,约 47.1%。以卵垂直感染为主,并有携带状态<sup>[1]</sup>。麻鸭是我国重要的经济动物,也是研究人工乙型肝炎及其药物作用机理的实验动物,日益受到广泛重视。有关 DHBV 感染与鸭肝组织炎症的关系曾有报道,但其超微结构变化报道甚少。本研究自 1997 年 5~10 月采用电镜对自然感染 DHBV 的麻鸭肝组织进行了观察,以揭示肝细胞病变与 DHBV 感染的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物** 麻鸭,购自上海市一远郊县,8 个月~1 年年龄,本实验前未经任何实验。

**1.2 方法** 翅静脉取血,分离血清,其超速离心沉淀悬浮液作负染色标本,检查 DHBV。电镜观察铜网不同方位的 5 个网孔,所见病毒颗粒数大于 100 为滴度“卅”,50~100 为“卅”,25~49 为“卅”,少于 25 为“+”,未见病毒为“(-)”。平均每个网孔病毒含量为血清病毒指数。这些血清标本再经克隆 DHBV DNA 分子杂交分析,确定病毒感染阳性和阴性。

肝组织电镜标本制备及观察 DHBV 感染阳性鸭 15 只,其中血清滴度“卅”9 只,“+”者 6 只,“(-)”4 只作正常对照。肝标本经活体快速肝穿获得,以 3% 戊二醛和 1% 锇酸双固定,常规电镜包埋、超薄切片经铀、铅双染。JEM-1200 型电镜观察。每例肝标本观察 200 个肝细胞,计数其中异常改变肝细胞数,并与血清病毒指数作相关分析。

2 结果

**2.1 电镜观察 DHBV 阴性鸭肝组织基本正常**,各种细胞器丰富,分部均匀,形态正常(图版 I: 1, 见封 2, 下同),仅见极少数肝细胞有异常变化(见表 1)。

表 1 异常细胞数与血清 DHBV 滴度关系

项目	血清病毒滴度及病毒指数(Σ)		
	卅(n=9)* Σ=305	+(n=6)* Σ=22	(-)(n=4) Σ=0
糖原增多	688	154	19
病毒感染	659	175	0
RER、M 减少	605	158	21

注:异常肝细胞与血清病毒滴度相关系数为  $r=0.954$   $P$  值  $<0.001$ ,  $r=0.838$   $P$  值  $<0.05$ ,两者均有显著正相关性

**2.2 15 只 DHBV 感染阳性的鸭肝组织均有不同程度超微病理改变**。现将较突出的变化分述如下。

(A) 肝细胞内糖原异常丰富(一般指糖原颗粒占细胞质面积的 50% 以上)。80% 的鸭 (12/15) 肝组织中糖原增多,呈蓄积状态,有的

第一作者介绍:陈佩兰,女,53 岁,技师,中专;

收稿日期:1998-01-24,修回日期:1998-09-13

肝细胞内糖原高度聚集,形成糖原湖(见图版 I:2)。

(B)肝细胞内病毒颗粒检出率高。15 只 DHBV 感染阳性鸭肝组织均检出了病毒颗粒。9 只血清 DHBV 滴度“++”者肝细胞扩张的粗面内质网(RER)池内可见大量病毒,其中一种为直径 30~45nm 不完整的空心病毒;另一种为直径 50~65nm 完整的实心病毒(见图版 I:3)。

血清滴度“+”鸭肝细胞内病毒相对减少,且实心成熟病毒颗粒也少见(见图版 I:4)。

(C)RER 和线粒体(M)减少。在糖原积蓄和病毒感染的肝细胞内,RER 和线粒体等细胞器明显减少。仅见少量散在 RER 多表现为中度至高度扩张和脱颗粒状态。线粒体肿胀、基质密度变低,嵴减少甚至消失。同时可见胞质空泡变性(见图版 I:5~6)。

2.3 电镜观察肝细胞超微病变与血清病毒滴定相关分析(表 1)。

### 3 讨论

已有资料证明<sup>[2]</sup>,当肝脏缺乏葡萄糖-6-磷酸(G-6-P)酶时,储存在肝细胞内的糖原不能被有效分解利用。同时新的糖原不断合成,导致糖原在肝细胞内逐渐累积。实验研究证实,G-6-P 酶活性定位于粗面内质网(RER)池表面,当 RER 扩张脱颗粒时,其蛋白质及各种酶的合成受到影响。此时,酶细胞化学分析显示,G-6-P 酶活性降低或消失<sup>[3-4]</sup>。电镜下所见,积蓄糖原和含病毒的肝细胞 RER 及线粒体等细胞器明显减少,RER 呈中度至高度扩张,线粒体肿胀或凝集。此改变无疑使 G-6-P 酶合成受损害,线粒体能量合成功能下降,甚至影响整个细胞的生理活动。

其是糖原异常增生的原因之一。

15 只 DHBV 感染阳性鸭肝组织均检出了数量不等的直径为 30~65nm 球形颗粒,此结构的性质已得到免疫组化及电镜病毒形态发生学的证实是鸭肝细胞内增殖的 DHBV 颗粒<sup>[5-6]</sup>。

电镜观察显示,DHBV 感染阳性与阴性鸭肝组织明显不同。前者,肝细胞的各种异常改变可能为病毒感染引起的超微病变。经相关分析表明:病变肝细胞数量与血清 DHBV 滴度有显著相关性。且肝细胞超微病理改变程度也随血清病毒滴度的增加而加重。DHBV 感染与携带会直接影响动物机体健康。鉴于麻鸭的实验价值和在国内的经济地位,应积极阻断 DHBV 的传播途径,降低其感染率。

**致谢** 本实验 DHBV DNA 分子杂交检测由中国医学科学院医学生物技术研究所陈鸿珊教授,北京医科大学肝炎研究所杜绍财副研究员协助完成,特此致谢。

### 参 考 文 献

- 1 李 凡,朱万孚,庄 辉等.鸭乙型肝炎病毒垂直传播研究.北京医科大学学报,1989,21(5):403~404
- 2 继田敏次等主编.肝脏の病气:糖质代谢异常 地址:中外医学社,1980.299~302
- 3 Nordhr, R. C. W. J. Ario. Glycose-6-phosphatase methods enzynol. life Science. 1979,24:2379~2381
- 4 陈佩兰,刘超英,陈乃玲.G6P 酶细胞化学技术在糖原储积病诊断中的应用.国外医学临床生物化学与检验学分册,1996,17(特刊):5~6
- 5 陈良标,王桂林,宋献涛等.鸭乙型肝炎病毒抗原在感染麻鸭器官内的免疫组织化学定位.中华微生物与免疫学杂志,1990,10(3):180~183
- 6 陈良标,贾克明,陈佩兰等.鸭乙型肝炎病毒形态学及形态发生的超微结构研究.中华实验和临床病毒学杂志,1988,2(1):17~21

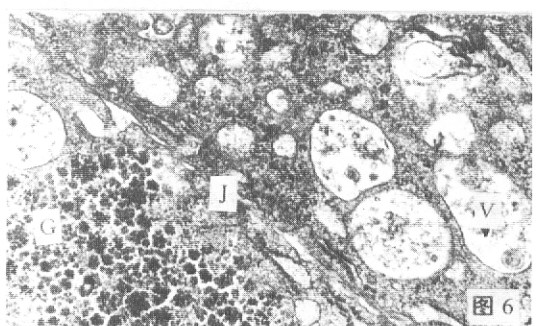
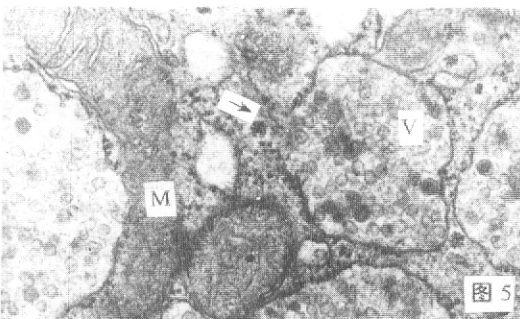
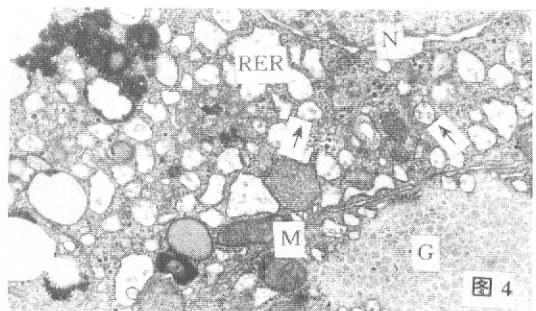
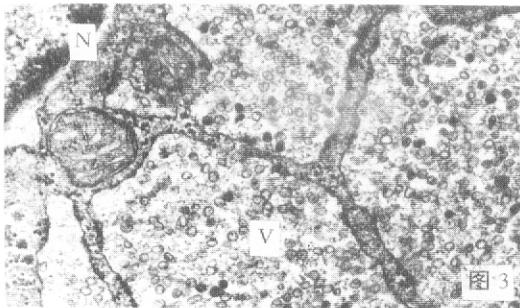
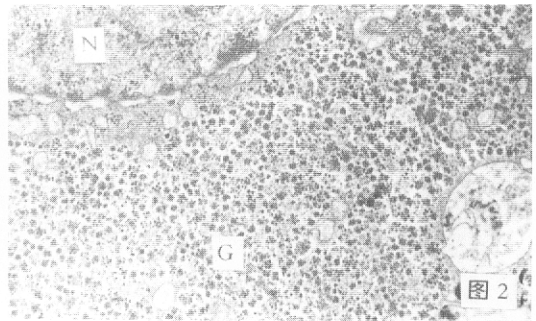


图 1 正常鸭肝细胞 G:糖原,RER:粗面内质网,M:线粒体,N:细胞核  $\times 5\ 000$

图 2 肝细胞内糖原异常增多,呈蓄积状态 G、N同图1  $\times 8\ 000$

图 3 扩张的 RER 池内充满病毒 V:颗粒,N同图1  $\times 20\ 000$

图 4 箭头示扩张的 RER 池内空心病毒颗粒 M同图1,但凝集,G:糖原湖,RER、N同图1  $\times 10\ 000$

图 5 箭头示扩张的 RER 池内含病毒颗粒 V同图3,M同图1,但肿胀  $\times 40\ 000$

图 6 含病毒和糖原肝细胞 V同图3,G同图4,J:细胞连接  $\times 40\ 000$