

海湾扇贝体内一种球型病毒样颗粒及宿主细胞病理学

杨宁,任素莲,宋微波

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 利用透射电镜对养殖中罹患“性腺萎缩症”的海湾扇贝(*Argopecten irradians*)做了观察,结果显示,在病贝的消化盲囊上皮细胞中感染有一种病毒样颗粒。该颗粒近球形,无囊膜,直径50~80 nm。同时在细胞质内观察到许多泡状的包涵体以及病毒样颗粒的形成过程。受感染组织的病理学变化主要表现为细胞核染色质减少,核膜膨胀、部分溶解;内质网肿胀、核糖体脱落,线粒体嵴退化,溶酶体数量增多。

关键词: 海湾扇贝(*Argopecten irradians*); 细胞病理学; 病毒样颗粒

中图分类号: S944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2005)09-0056-04

2002年春天,山东日照一扇贝育苗场培育的海湾扇贝(*Argopecten irradians*)亲贝发生性腺萎缩现象并最终导致约1/3的亲贝死亡。随后所开展的电镜观察发现,患病贝消化盲囊上皮细胞中感染有一种无囊膜球形病毒样颗粒,形态结构与迄今的报道明显不同^[1,2]。作为一初步研究成果,作者报道了其形态结构以及受感染细胞的病理学变化。

1 材料与方法

1.1 材料

海湾扇贝于2002年3~4月取自日照一扇贝育苗场,壳高平均约5.3 cm。其外观症状主要表现为软体部消瘦,无光泽,性腺严重萎缩。鳃苍白色并有轻度糜烂。肠道内含物少,呈空或半空状。

1.2 方法

活体解剖病贝个体,取消化盲囊、性腺、鳃、外套膜等部位,按常规方法进行电镜样品的固定、脱水、包埋等^[3],LKB-Nova超薄切片机制片,醋酸铀、柠檬酸铅双重染色,日立H-7000型透射电镜下观察并拍照。

2 研究结果

2.1 病毒样颗粒的形态结构

在病贝消化盲囊上皮细胞质中发现感染有大量的病毒样颗粒(图1-1,1-2,VLP)。颗粒呈圆球形,直径50~80 nm,无囊膜包裹。颗粒中心电子密度较低,边缘密度较高(图1-3,1-4,VLP)。

在受感染细胞的胞质内,可见有大量多泡状包涵体。包涵体通常位于细胞核附近,为球形、椭球形或肾形结构,大小不一(最大者长径约9 μm,短径约

8 μm)(图1-2,IB)。包涵体内部小泡电子密度极低,多呈空泡状,少部分小泡内有低电子密度物质并可观察到病毒样颗粒的存在(图1-2,1-3,VLP),而小泡之间则填充着中等电子密度物质(图1-2,IB)。在泡状包涵体的内部及边缘均可观察到具有一定电子密度的物质在包装、形成病毒样颗粒(图1-3,1-4,箭头)。因而推测泡状包涵体内的电子密度物质可能为病毒样颗粒发生的基质,而泡状包涵体则为其发生的场所。

在泡状包涵体内仅发现有少量的病毒样颗粒存在(图1-3,VLP),而大量颗粒则散布于包涵体之外的细胞质内(图1-2,VLP)。

2.2 宿主细胞的病理学变化

宿主细胞的病理学变化十分明显,在消化盲囊细胞质内除大量的泡状包涵体外,另有细胞损伤时常见的板层髓样结构(髓样小体)(图1-5,MB)。细胞内普遍出现线粒体膜溶解、嵴消失以及数量减少等现象(图1-5,1-6,M);内质网水肿并膨大为泡状,核糖体脱落(图1-1,1-6,RER);胞质内次级溶酶体数量增多(图1-2,1-7,SL),有些溶酶体内可见纤维状增生物(图1-7,SL)。核膜膨胀或溶解,染色质显著减少并固缩(图1-1,1-2,N)。

此外,在消化盲囊上皮细胞中另发现感染有立克次氏体样原核生物(图2-1,RLO),受感染细胞的细胞

收稿日期:2004-02-20;修回日期:2004-06-25

基金项目:“长江学者奖励计划”及水产养殖教育部重点实验室开放课题联合资助

作者简介:杨宁(1977-),女,山东青岛人,硕士,研究方向:病害病理学;任素莲,通讯联系人,E-mail:slren@mail.ouc.edu.cn

核、细胞器普遍受损。但未见二者共同感染同一宿主细胞的现象。

性腺、鳃、外套膜组织细胞也呈现出不同程度的病理学变化特征,如核膜溶解、细胞器损伤等,生殖细

胞质中还发现有形态不规则的、无膜包裹的致密状结构(图 2-2,箭头),可能是光镜下观察到具折光性的致密颗粒样结构^[4],形成原因与作用不清。但上述组织中均未发现有病毒样颗粒及其它病原体存在。

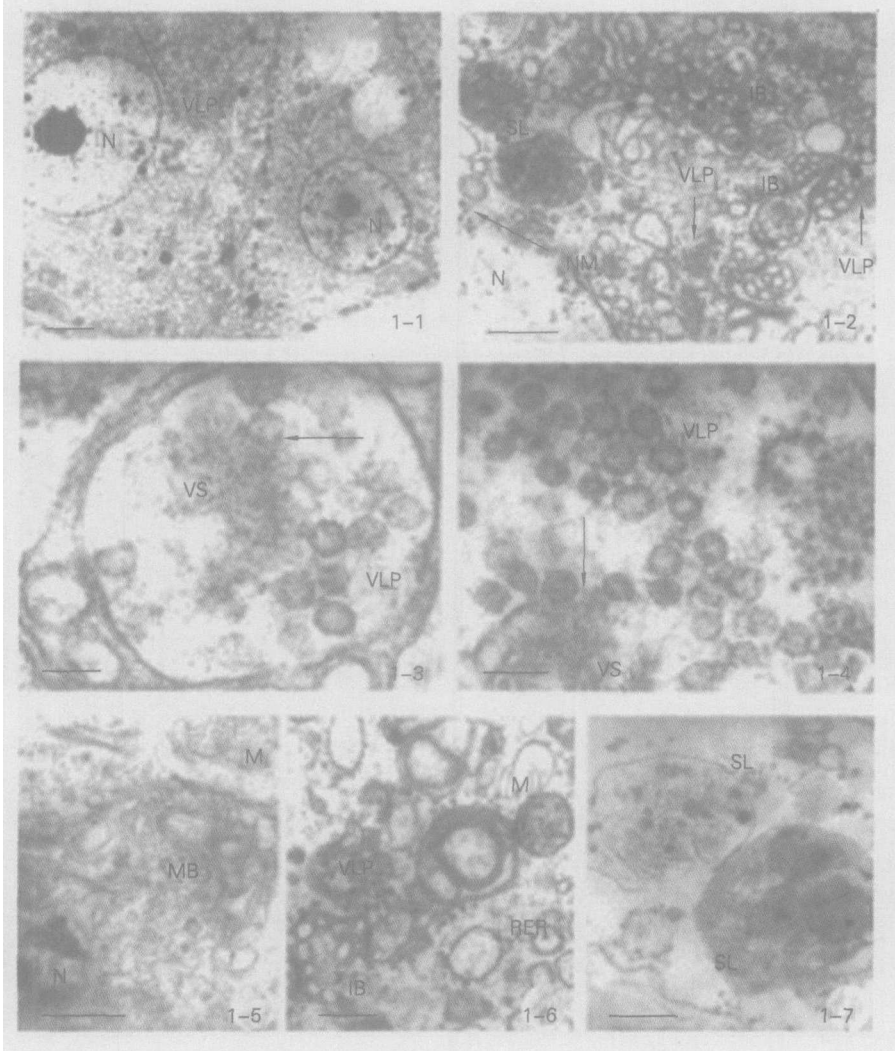


图 1 病毒样颗粒的形态结构及引起的细胞病理学变化

Fig. 1 The formation of the virus-like particles and the pathological changes

1-1 消化盲囊上皮细胞,箭头示病毒样颗粒;1-2 包涵体的形态、结构;1-3 包涵体小泡内的病毒样颗粒、发生基质,箭头示正在形成的病毒样颗粒;1-4 位于包涵体外病毒样颗粒,箭头示病毒样颗粒在包涵体的边缘形成;1-5 受感染细胞质内出现的髓样小体;1-6 感染细胞质内的线粒体、内质网等发生的病理变化;1-7 细胞质内的次级溶酶体

1-1 Epithelial cells of digestive diverticula, arrow showing the virus-like particles (Bar=2.2 μm);1-2 The ultrastructure of the cytoplasmic inclusion bodies (Bar=1 μm);1-3 The virus-like particles and virogenic stroma in the inclusion bodies, arrow showing the formation of the virus-like particle (Bar=100 nm);1-4 The virus-like particles out of inclusion bodies, arrow showing the formation of virus-like particle on the periphery of the inclusion body (Bar=100 nm);1-5 The myeloid body in the cytoplasm of infected cell (Bar=1 μm);1-6 The pathological changes of mitochondria, nucleus and rough endoplasmic reticulum vesicles (Bar=0.5 μm);1-7 The infected cell showing the secondary lysosomes in the cytoplasm (Bar=0.5 μm).

N-细胞核(nucleus), NM-核膜(nuclear membrane), IB-包涵体(inclusion body), VS-发生基质(virogenic stroma), VLP-病毒样颗粒(virus-like particles), SL-次级溶酶体(secondary lysosome), M-线粒体(mitochondria), RER-粗面内质网(rough endoplasmic reticulum), MB-髓样小体(myeloid body)

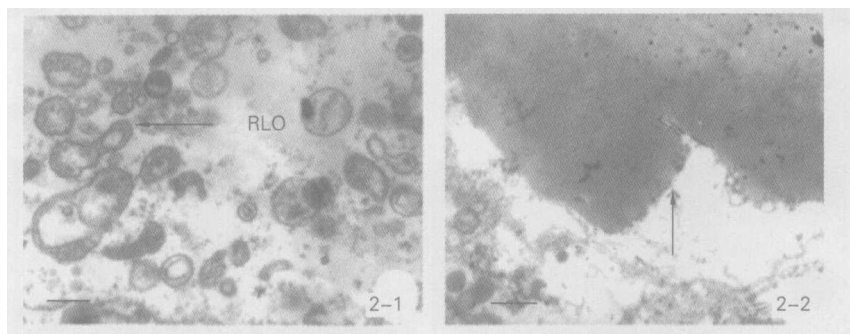


图2 消化盲囊上皮中寄生的类立克次体及性腺中的大型致密颗粒

Fig. 2 The Rickettsia-like organisms parasitized in digestive diverticula and the densed particle founded in the germ cell

2-1 消化盲囊上皮细胞中寄生的类立克次体; 2-2 性腺中的大型致密颗粒结构

2-1 The Rickettsia-like organisms parasitized in digestive diverticula(Bar=0.4 μm);

2-2 The densed particle founded in the germ cell(Bar=0.8 μm)

RLO-类立克次体(rickettsia-like organisms)

3 讨论

目前,国内外有关扇贝病毒性疾病的研究较少。迄今的报道包括自挪威扇贝(*Pecten maximus*)中分离出一种传染性无囊膜腺坏死病毒(IPNV)(二十面体对称,直径约60 nm^[5])、海湾扇贝体内的一种具囊膜疱疹病毒(直径约200 nm^[2])以及近年来自栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)体内发现的一种球形病毒,该病毒粒子也具有囊膜,直径为130~150 nm,新近又研究已证明是导致扇贝大规模死亡的主要病原^[6~8]。本工作涉及的病毒样颗粒为近球形,发现于消化盲囊上皮细胞质中。其形态特征与海湾扇贝^[1~2]和栉孔扇贝^[6~8]中所发现的病毒颗粒明显不同,而与文蛤(*Meretrix meretrix*)^[9]中所见的病毒在大小、形态结构、发生过程及感染部位等特征上相似。

作者等以前的工作显示,患“红肉病”文蛤消化盲囊上皮细胞中发现的球形病毒也无囊膜,直径50~80 nm,在细胞质内增殖,具多泡状的包涵体^[9]。与作者研究所发现的病毒样颗粒十分相似,相关研究仍在进行中。

贝类病毒大多无严格的组织部位选择性^[1~2,5~6,10],而此种病毒样颗粒仅发现于消化盲囊上皮细胞质中,因而推测该病毒样颗粒可能具有一定的部位选择性。此特性与发现于对虾中的一种呼肠弧病毒(REO)相似,后者仅感染中肠腺F细胞和R细胞的细胞质^[11]。

另外,据前人报道,引起贝类病害的生物性病原

除病毒外还有原生动物、细菌、类立克次体等^[12~15],而多种病原体的混合感染已发现在部分病例之中^[8,15]。作者研究结果显示,在患病海湾扇贝的消化盲囊中也发现有一定数量的立克次体样(RLO)原核生物。尽管尚未发现二者感染同一宿主细胞的现象,但受RLO感染的细胞也出现细胞核、细胞器普遍受损的病理变化特征。有关病毒样颗粒和类立克次体与扇贝病害发生的关系,有待确认。

致谢:中国海洋大学水产学院王德秀老师协助采样,测试中心电镜室刘晓云和姜明老师在电镜制样及观察过程中给予了极大帮助,在此致以衷心感谢!

参考文献:

- [1] 贺桂珍,李 云,王崇明,等. 栉孔扇贝和海湾扇贝病原体感染与疾病发生关系探讨[J]. 高技术通讯, 2003, 13(3): 75-79.
- [2] 姜静颖,高悦勉,史晓明. 海湾扇贝体内发现一种新病毒-疱疹病毒[J]. 山东农业大学学报, 1997, 28(增刊): 26-28.
- [3] 王伯云,李玉松,黄高昇,等. 病理学技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000, 283-294.
- [4] 杨宁,任素莲,宋微波. 海湾扇贝(*Argopecten irradians* Lamark)“性腺萎缩症”的组织病理学研究[J]. 中国海洋大学学报, 2003, 33(3): 349-354.
- [5] Mortensen S H, Bachere E, Le Gall G, et al. Persistence of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in scallops *Pecten maximus*[J]. *Dis Aquat Organ*, 1992, 12(3): 221-227.
- [6] 刘英杰,吴信忠,朱名壮,等. 栉孔扇贝球形病毒的

- 超微结构及细胞病理学研究[J]. 热带海洋学报, 2002, 21(4): 76-79.
- [7] 王崇明, 王秀华, 宋晓玲, 等. 栉孔扇贝一种球形病毒的分离纯化及其超微结构观察[J]. 水产学报, 2002, 26(2): 180-184.
- [8] 宋微波, 王崇明, 王秀华, 等. 栉孔扇贝大规模死亡的病原研究新进展[J]. 海洋科学, 2001, 25(12): 23-26.
- [9] 任素莲, 王德秀, 宋微波, 等. “红肉病”文蛤中发现的一种球形病毒的形态发生与细胞病理学[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 265-269.
- [10] Meyers T R. A reo-like virus isolated from juvenile American oyster (*Crassostrea virginica*)[J]. *J Gen Virol*, 1979, 43: 203-212.
- [11] 管华诗. 海水养殖动物的免疫、细胞培养和病害研究[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999. 82.
- [12] 梁玉波, 杨波, 王立俊, 等. 辽宁黄海沿岸水域增殖贝类病害发生机理和防治对策[J]. 海洋环境科学, 2000, 19(1): 5-10.
- [13] 张国范, 李霞, 薛真福. 我国养殖贝类大规模死亡的原因分析及防治对策[J]. 中国水产, 1999, 9: 34-39.
- [14] 吴信忠, 潘金培, 江静波. 贝类病害学研究进展 I. 贝类微生物学研究[J]. 海洋通报, 1995, 14(2): 82-90.
- [15] 任素莲, 王德秀, 宋微波. “红肉病”文蛤中寄生类立克次体的超微结构与细胞病理学[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 79-84.

A spherical virus-like particle found in *Argopecten irradians* Lamarck and its cytopathology

YANG Ning, REN Su-lian, SONG Wei-bo

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Feb. 20, 2004

Key words: *Argopecten irradians*; cytopathology; spherical virus-like particles

Abstract: In spring 2002, a large amount of cultured scallop, *Argopecten irradians* Lamarck died of “gonad atrophy disease” in Rizhao, Shandong, North China. Electron microscopic examinations revealed the presence of spherical virus-like particles in the digestive diverticula of the scallop infected. The spherical virions were about 50~80 nm in diameter, no capsula. The inclusion bodies were formed in the cytoplasm with multivesicular, where virus-like particles assembled. Cells infected with the virus-like particles presented obvious pathological changes, e. g. nuclear membrane and mitochondria dissolving, endoplasmic reticulum swelling and mostly turning into vesicles, and the number of lysosome increasing.

(本文编辑: 张培新)