DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.01.039

论文摘要

关于流行性出血热病毒和超微病理的研究

盛 鹏 晏良遂 洪 涛*（病理教研室）

1. 流行性出血热病毒结构蛋白与RNA的定位及其形态发生的研究

本研究应用常规电镜技术，抗病毒结构蛋白单克隆抗体（McAb）胶体金标记免疫电镜技术，^{3}H-uridine标记电镜放射自显影，电镜放射自显影与免疫胶体金双标记以及电镜细胞内核酸原位杂交技术，以常规形态学观察与病毒结构蛋白定位、定性相结合，病毒结构蛋白定位与病毒RNA定位相结合，以及三者之间相互对比研究相结合的方法，对病毒结构蛋白N、G_2和首次对病毒RNA在感染Vero-E6细胞中的定位、病毒的形态发生和细胞病变及其相互关系进行了研究，结果表明：(1)EHF病毒R_{22}株感染Vero-E6培养细胞超微病变可分为早期、中期、晚期3种。早、中期病变细胞的特点是合成代谢增强和病毒的增殖；晚期则以退行性病变为特征。(2)病毒颗粒可通过细胞吞噬作用进入Vero-E6细胞。(3)察见粗面内质网呈G_2抗原阳性反应，放射自显影亦显示其上有病毒RNA存在；发现并命名小泡复合体结构，其内含有可呈不同大小、形态的一组病毒G_2抗原阳性小泡，首次在EHF病毒感染细胞内发现病毒糖蛋白抗原阳性结构。在G_2抗原阳性小泡之间并可见少量病毒样颗粒和病毒颗粒；小泡复合体旁常有N抗原阳性的病毒包含体伴随，有的并可与其相通。小泡复合体外膜可消失，其内糖蛋白抗原阳性小泡可游离于胞浆，呈少量散在或聚集成小泡状包含体。此外，还观察到小泡复合体及其类似结构中马蹄铁形膜板或环层体膜一侧有芽生小泡的现象。上述结果表明：病毒糖蛋白可能由粗面内质网合成；小泡复合体内小泡状结构为感染细胞中1种病毒糖蛋白前体；小泡复合体可为产生病毒颗粒的场所之一，但主要是做为产生和聚集病毒糖蛋白阳性小泡的场所。游离于胞浆内的G_2阳性小泡可携带并提供病毒复制所需糖蛋白成份，可能通过结合于病毒芽生部位的细胞膜中，构成病毒颗粒囊膜中糖蛋白成份。(4)除文献已报道的几种形态包含体外，还发现两种形态包含体：一为微粒微丝小泡状包含体，另一为小泡状包含体。前者微粒微丝成份呈病毒N抗原阳性反应，后者则呈G_2抗原阳性反应。部分N抗原阳性的包含体中有病毒RNA存在。在包含体内未见形成病毒颗粒的明确迹象。故认为，结合有病毒RNA的N抗原阳性包含体并不直接形成病毒颗粒，而可能是装配、堆积核壳体的部位。一部份包含体亦可能为病毒N的剩余产物。病毒N抗原阳性物质可由病毒RNA在胞浆内游离多聚核糖体上翻译合成，然后可能通过汇集形成包含体并不断增大。(5)病毒芽生部位不仅发生在细胞内滑面囊泡处，而且还发生在细胞质膜包括微绒毛状突起处。在上述部位发现病毒芽生过程的几种不同形态学表现，并对其进行了结构蛋白和RNA定位。察见带“茎”状尾样结构的未成熟、成熟病毒颗粒和“杠铃”形结构以及奇特的“竹节”样芽生现象。进一步分析了病毒可能的芽生过程，讨论了几种芽生现象产生的可能方式。(6)察见一组小于成熟病毒颗粒、大小不一、具有不同内浆形态、被成熟病毒囊膜样结构所包绕的不成熟病毒颗粒，相互间似有移行现象，并可从细胞膜表面拖一“茎”状尾样结构芽生。考虑其可能具有进一步发育演变的能力。(7)EHF病毒颗粒从感染细胞中可经胞吐释放、芽生释放和崩解释放3种方式。(8)病毒感染细胞中N抗原阳性的电子致密颗粒可聚在一起向细胞外释放。结合感染细胞中存在大量N抗原阳性物质(如包含体)及其它实验结果，认为N抗原物质可能为构成免疫复合物的主要抗原成份。(9)病毒相随颗粒多见于崩解释放的病毒颗粒周围，而位于滑面囊泡中或以胞吐方式释放的病毒颗粒周围未见存在。结合其大小、形态，认为是在崩解释放时随病毒颗粒逸出细胞的核糖体颗粒。(10)归纳并图示EHF病毒感染细胞中病毒结构蛋白N、G_2与RNA的分布、复制、装配部位和形态发生与释放的可能途径与方式及其相互关系。(11)在关于病毒抗原和核酸细胞内的定位研究中，首次建立并应用了电镜放射自显影与免

*中国预防医学科学院病毒学研究所教授

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

疫胶体金双标记技术和电镜细胞内病毒RNA原位杂交技术。

2. 地鼠实验性流行性出血热肺组织超微病变及病毒的形态和形态发生

本文作者采用目前EHF研究中较为理想的1种致病动物模型，通过常规电镜和免疫胶体金电镜观察，对经EHF病毒A9株感染的地鼠肺组织细胞中EHF病毒形态、形态发生、不同类型感染细胞的超微病变及其特点等方面进行了研究：（1）在地鼠肺组织Ⅰ型上皮细胞内及毛细血管腔内皮细胞突起之间发现典型确切的EHF成熟病毒颗粒，其形态与在感染的培养细胞中所见者完全一致，为在体内组织细胞中判定EHF病毒提供了进一步的形态学依据。（2）在肺毛细血管内皮细胞中发现病毒包含体、管状结构、以及病毒芽生现象等EHF病毒感染所致的形态学特征，为EHF病毒直接侵犯毛细血管内皮细胞并在其内繁殖提供了直接确切的超微形态学证据。（3）在鼠肺泡壁毛细血管内皮细胞腔面、单核细胞和红细胞与内皮细胞之间等部位观察到附着和游离的电子致密物，经McAb免疫胶体金电镜标记显示其为病毒核蛋白抗原阳性物质。分析考虑EHF病毒核蛋白的释放可能在EHF免疫发病机制中具有十分重要的作用。（4）同时还对肺组织不同感染细胞的超微病变及其特点、病毒的形态发生等进行了观察、描述和分析。

上述1、2文中绝大部分材料均未见文献报道。

抗人肺癌McAb WLA-2C_4的制备及相应TAA的研究

王登顺 史景泉 袁 玫（病理教研室）

本文报告用人肺腺癌细胞株A549为免疫原，应用常规细胞融合技术，获得了5株抗人肺癌的单克隆抗体WLA-1B_4，WLA-2D_1，WLA-1G_7，WLA-1G_9和WLA-2C_4。前4株均为IgM型，后1株为IgG1型。添加试验表明WLA-2D_1和WLA-1G_9识别的可能系同一抗原决定簇，而WLA-1B_4、WLA-2C_4之间以及二者和WLA-2D_1、WLA-1G_9识别的均为不同的抗原决定簇。对抗原决定簇理化性质的初步分析表明，除WLA-2C_4识别蛋白质抗原决定簇外，其余4株识别的均为糖脂抗原决定簇。ABC法免疫组织化学研究表明，5株McAbs与肺癌组织均呈阳性反应。除WLA-2C_4外，其余4株与正常支气管粘膜上皮、腺体及肺泡上皮均有不同程度的交叉反应。

选择性地对WLA-2C_4进一步研究表明，该抗体对应的肿瘤相关抗原WLA-Ag1为分子量约58KD的糖蛋白分子。该抗原优势表达于肺低分化腺瘤、中低分化鳞癌、大细胞肺癌和部分小细胞肺癌，而在高分化腺癌（包括肺泡细胞癌）、高分化鳞癌却极少表达。该抗原主要位于阳性癌细胞的胞膜及胞浆。此外，该抗原在胃和结肠的低分化腺癌、乳腺癌亦有较强的表达，而在胃及结肠的高分化腺癌却很少表达。用2株抗CEA的McAbs与WLA-2C_4进行的添加试验表明，WLA-2C_4识别与它们不同的抗原决定簇。

应用WLA-2C_4抗体、SABC-ELISA免疫结合抑制法检测了100例正常人，56例非肿瘤疾病患者和93例经病理检查确诊为肺癌的病人血清中WLA-Ag1抗原含量表明，在以100名正常人血清结合抑制率的均值加2倍标准差为阈值的条件下，肺癌血清的总体阳性率为54%（51/93），其中鳞癌阳性率为48%（15/31），腺癌为55%（21/38），小细胞肺癌为57%（12/21），检测的3例大细胞肺癌均为阳性。在17例肺低分化腺癌的血清中，有16例（94%）WLA-Ag1抗原阳性，而在8例细支气管肺泡癌和2例高分化腺癌中仅2例细支气管肺泡癌阳性（20%）。在100例正常人和56例非肿瘤疾病患者中，仅7例阳性，假阳性率为4.5%（7/156）。

用WLA-2C_4和抗CEA的McAb CL-3联合检测肺癌血清TAA表明，当把WLA-Ag1和CEA其之一阳性即判为阳性时，63例肺癌的总体阳性率可达79%，其中对肺鳞癌检出率为89%，腺癌检出率83%，小细胞癌67%。而健康人和非肿瘤疾病患者出现的假阳性率仅为6%，与二者单独应用时无显著差别。

用^{131}I标记WLA-2C_4抗体和^{125}I标记鼠IgG（双标记法）对裸鼠人肺癌移植瘤的γ显象以及标记抗体在裸鼠体内的动态分布研究表明，WLA-2C_4抗体在碘标记后可保存标记前近90%的免疫活性，且^{131}I-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne