

传染性法氏囊病病毒人工感染 SPF 鸡胚 诱导法氏囊细胞细胞凋亡的研究

陈明勇^① 高齐瑜 郭建华 王彩虹
(动物医学院)

Studies on the Apoptosis of Chicken Embryo Bursa Cells Induced by Infectious Bursal Disease Virus

Chen Mingyong Gao Qiyu Guo Jianhua Wang Caihong
(College of Veterinary Medicine)

鸡传染性法氏囊病是危害我国养鸡业发展的主要疾病之一。传染性法氏囊病病毒主要侵害鸡的法氏囊,导致法氏囊损伤和免疫抑制,使得鸡群对多种疫病的易感性增高,其免疫抑制机理尚不清楚。研究表明,IBDV 能诱导体外培养细胞发生细胞凋亡,并推测细胞凋亡是传染性法氏囊病感染鸡群免疫抑制的机理。为了阐明传染性法氏囊病病毒导致免疫抑制的机制,以便更好地为 IBD 的防治提供新的方法和手段,我们对 IBDV 人工诱导 SPF 鸡胚法氏囊细胞细胞凋亡进行了初步研究。

种毒为中国农业大学生物学院提供的 IBDV-H 株,滴度为 $LD_{50}10^{6.57} \cdot mL^{-1}$;SPF 鸡胚购自中国兽药监察所。试验方法:①取孵化至 15 日龄的 SPF 鸡胚,通过尿囊腔接种 IBDV-H 株,每枚 0.2~0.3 mL。接毒后 2,4,6 d 取法氏囊组织;②取上述法氏囊样品小块组织,2.5%戊二醛固定,4℃ 24 h 后用缓冲液漂洗,1%锇酸后固定,漂洗,常规超薄切片制作,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,透射电镜观察;③DNA 电泳分析:取上述法氏囊样品,按 Sambrook, J 等(1986)介绍的方法略加改进提取法氏囊细胞 DNA,将 DNA 样品加在 1.5%琼脂糖凝胶板上电泳,电压为 60 V,3~4 h 后,取出凝胶板作溴化乙锭染色,紫外灯下观察照像。

试验结果有二点。①法氏囊细胞的超微结构观察:IBDV 感染鸡胚后 2 d,可见法氏囊淋巴细胞呈现典型的细胞凋亡的形态学特征,即核染色质聚集成一个或数个团块,凝聚在核膜周边,胞质浓缩,细胞体积缩小,核膜与胞膜出现内陷,法氏囊细胞逐渐裂解成数个由膜包裹的细胞团块,病毒感染后 4~6 d,在视野中观察到为数不等,形态不一的半月形或新月形凋亡小体,同时在感染后期可见巨噬细胞吞噬死亡淋巴细胞的现象,而对照组法氏囊组织未出现上述现象。②法氏囊细胞 DNA 电泳结果:病毒感染后 2~6 d 的法氏囊细胞 DNA 样品在琼脂糖凝胶板上呈现梯状图谱,而对照组法氏囊细胞 DNA 在电泳谱上仅出现一条带。

试验结果显示:①IBDV-H 株人工感染 SPF 鸡胚后 2~6 d,法氏囊细胞出现典型的细胞凋亡的形态学特征和生化特征,表明 IBDV 人工感染 SPF 鸡胚,可以诱导鸡胚法氏囊细胞细胞凋亡。②IBDV 感染 SPF 鸡胚,诱导法氏囊细胞细胞凋亡,导致法氏囊淋巴细胞数量减少,免疫功能下降,从而引起免疫抑制。③电镜观察中,我们发现法氏囊细胞细胞凋亡主要集中在法氏囊髓质部,表明法氏囊髓质部未成熟的淋巴细胞是 IBDV 的最适靶细胞。

收稿日期: 1997-04-07

①陈明勇,北京海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094