

# 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<sup>①</sup> 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