

人巨细胞病毒小鼠模型的建立

李天宪 赵林 冯锋 陈绳亮 夏萍

(中国科学院武汉病毒研究所 武汉 430071)

摘要 采用 HCMV-AD₁₆₉ 株实验感染昆明系和 BALB/C 系小鼠, 攻毒后感染急性期 BALB/C 系小鼠的死亡率(28.57%)高于昆明系小鼠(5.26%)。两种不同品系小鼠的临床症状和 HCMV 导致的病理损害脑钙化无明显差异。昆明小鼠的发病率(94.74%)高于 BALB/C 小鼠。

关键词 人巨细胞病毒, 实验感染, 脑钙化

人巨细胞病毒(Human Cytomegalovirus HCMV)感染的普遍性和危害性日益引起研究者的重视。一般都是无症状的不显性感染和潜伏感染, 是引起人类先天畸形的重要原因之一。利用 HCMV 动物模型可模拟人类感染 HCMV 引起的疾病, 开展对 HCMV 感染的深入研究, 并可为抗病毒药物的筛选提供必要的动物模型。

本研究采用 HCMV-AD₁₆₉ 株实验感染不同品系的小鼠, 以及观察比较其对 HCMV 的易感性和脑组织的病理改变, HCMV 感染实验性小鼠模型的建立在国内尚属首次。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 昆明系小鼠(乳鼠), 3~7 日龄, 健康。由湖北省医学实验动物中心提供。BALB/C 系小鼠(乳鼠), 3~7 日龄, 健康。由湖北省医学实验动物中心提供。

1.1.2 实验动物营养条件: 合格证号: 第 042 号。

1.1.3 人巨细胞病毒: AD₁₆₉ 株(国际标准株)。

1.1.4 人胚肺细胞组织培养: 采用 RPMI-1640 培养基, 小牛血清等。

1.2 方法

该模型依据文献[1]。采用实验乳鼠数量以同一窝只数计算。

取 HCMV 人胚肺细胞培养液(TCID₅₀ = 10⁻⁴)乳鼠脑内接种。6~9d 后小鼠出现临床症状, 表现为共济失调等症状。存活 15d 以上小鼠脑组织可出现病理损害和钙化灶。分别在不同时期(攻毒后的不同天数)取出小鼠脑组织, 10% 中性甲醛固定, 组织切片, HE 染色观察病理改变。

对照组乳鼠脑内接种生理盐水。

2 结果和讨论

2.1 HCMV 实验感染的临床表现

昆明系小鼠感染早期(7d 以内)无明显症状。10~20d 部分小鼠出现轻度的共济失调症状,尿少、消瘦。少数实验鼠死亡;BALB/C 小鼠在感染后 5 天出现症状,并有部分死亡。存活小鼠继续饲养,分别在 15d、30d 和 60d 随机剖杀 4~6 只,取脑组织做病理切片观察。

2.2 两种不同品系小鼠 HCMV 感染后死亡率和发病率的比较(见表 1)

表 1 昆明、BALB/C 系小鼠感染 HCMV 后死亡率和发病率的比较

Table 1 Comparison of the death-rate and diseased rate with HCMV infected two groups mice

品系	例数	死亡数	死亡率(%)	发病数	发病率(%)
Groups	No. of cases	No. of death	Percentage of death	No. of diseased	Percentage of diseased
昆明	38	2	5.26	36	94.74
Kunmin					
BALB/C	21	6	28.50	15	71.50
对照					
Control	23	0	0	0	0

2.3 HCMV 感染后的小鼠脑组织的病理变化(见表 2 及图版 I)

表 2 HCMV 感染昆明系和 BALB/C 系小鼠脑组织动态切片观察

Table 2 Brain tissue of two groups mice with HCMV tendency Pathology

品系	病理变化 Pathological change		
	15d	30d	60d
Groups			
昆明	脑室下区和海马区内可见灶性坏死,小血管扩张,炎性细胞浸润	同前,部分区域有砂粒体形成	皮质区和海马区神经原有灶性坏死,可见钙化灶
Kunmin			
BALB/C	脑室下区和海马区内可见灶性坏死,个别细胞脱髓鞘,有血管套形成	同前,个别区域可见砂粒体及少数的钙化灶	同上
C			
对照	脑室下区及海马区域内未见明显病变	脑组织正常	同前
Control			

以上实验结果表明, HCMV 感染昆明系和 BALB/C 小鼠的急性期, BALB/C 小鼠发病的临床症状明显,而且死亡率比昆明系小鼠为高。对感染 7~15d 死亡的小鼠原因之一是 HCMV 感染急性期导致的死亡;二是由于脑内接种操作时的损伤导致死亡。故 15d 内的死亡均不利于该模型的建立及运用。HCMV 对哺乳小鼠进行脑内接种。可产生严重的坏死性脑室管膜炎及脑炎,继之在脑室下区、皮质和海马区出现以破坏为特征的损害,结果导致部分脑组织的钙化。据文献[1]报道,小鼠在断奶后接种 HCMV 则并不发生这些病变。这表明,发病与接种和鼠龄有关。HCMV 感染小鼠后不同时期两种不同品系的小鼠脑组织的病理变化, BALB/C 系小鼠脑组织比昆明系病变损害进程为快,

而病理损害的结果是一致的,从而可以看出, HCMV 感染两种品系小鼠, BALB / C 系小鼠较昆明系易感。而昆明系小鼠来源于 Swiss 系,也属于易感品系。

HCMV 实验感染小鼠所表现严重的神经病理改变与儿童中所见的十分相似,中枢神经系统 CMV 感染的病理特征为严重的脑损害,包括脑组织局灶性破坏的脑炎,脑钙化和小头畸形。尽管人类和小鼠在免疫学方面不尽相同,但 CMV 感染后的特征有许多相似之处。本模型对于研究 HCMV 诱发神经系统钙化和脑畸形的发病机理,以及人类感染 HCMV 后的病理损害及免疫学研究提供了科学依据,并且为抗病毒药物的筛选提供必要的实验动物模型。

参 考 文 献

- [1] Jones J C (程鸣译). 人类疾病动物模型. 上海: 上海医科大学出版社, 1989, 40~41.
- [2] 汤家铭, 刘昌茂, 袁云华, 等. 上海实验动物学, 1990, 10: 129~132.
- [3] 高又新, 刘建军, 杨占秋, 等. 中国病毒学, 1993, 8(3) 290~292.

AN EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL STUDY OF HCMV

Li Tianxian Zhao Lin Feng Feng Chen Shenliang Xia Ping

(Wuhan Institute of virology, Academia Sinica, Wuhan 430071)

Abstract This Paper is a study of animal model on the Kunmin and BALB / C mice infected HCMV-AD₁₆₉. The death-rate showed a marked higher BALB / C mice (28.75%) than the kunmin mice. The Kunmin mice Percentage of diseased (94.74%) higher than BALB / C mice. Brian tissue of two groups mice that pathological changed was equal by HCMV infected.

Key words HCMV-AD₁₆₉, Infected, Brain-calcify

图 版 说 明

Explanation of plate

1. 部分鼠脑组织坏死, 脑室内出血 (HE × 100); 2. 鼠脑组织中有砂粒体及钙化灶 (HE × 100).
1. Some brain tissue damaged and blood-shot; 2. Some brain tissue take shope grit and calcify