维普资讯 http://www.cqvip.com

3 展望

近距离放射治疗作为放射治疗学的一个重要的组成部分也在不断的更新发展。252Cf作为一种新型的腔内治疗放射源应用于临床,在近30年的研究中取得了令人振奋的疗效而显现出它在治疗恶性肿瘤方面强劲的生命力。但中子治疗目前仍存在放射源昂贵、中子射线在不同介质面吸收和反射不一致,容易造成冷热点和剂量分布不均而造成放射损伤等问题。1999年国内第一台中子后装治疗机首先投入临床使用,目前已有约20家医疗单位在临床应用。期望在众多有经验的放疗科医师、放射物理师以及妇科医师、放射生物学家的共同协作下,这一治疗手段成为肿瘤治疗中的新式武器。

[参考文献]

[1] Jacek G, Wierzbicki, Mark J, et al. Physics and dosimetry of clinical 252cf sources[A]. In·Jacel GW. Californium-252 isotope for 21st century radiotherapy[M]. Defroit: Kluwer Academic Publishers. 1998. 25 - 53.

[2] Konoplyannikov AG. Biological effects of γ-neutron radiation 252cf or fession neutron from the BR-10 reactor on tumor and normal cells and tissues[A]. In·Jacel GW. Californium-252 isotope for 21stcentury radiotherap[M]. Defroit: Kluwer Academic Publishers. 1997. 257 - 261.

[3] Masunaga S, Ono K, Akuta K, et al. The response of quiescent cell populations in murine solid tumors to irradiation with fast neutrons[J]. Acta Oncol, 1994, 33(7): 813 - 817.

[4] Maruyama Y, Mesina J, Yudelev M, et al. New understanding from Cf brachytherapy trials and considerations for neutron therapy of bulkygyn carcinoma for future[J]. Strahlenther Onkol, 1994, 170(5): 253 - 263.

[5] Vtyruin BM, Medvedev VS, Ivanov VN, et al. Perioperative neutron brachytherapy with californium-252[J]. Int J Oncol Biol Phys, 1992, 23(4): 873 - 879.

[6] Radice E, Dozois RR. Locally recurrent rectal cancer[J]. Dig Surg, 2001, 18: 355 - 362.

[7] Atkoius V, Burneckis A, Atkoien V. Clinical radiobiology of HDR Cf-252 brachytherapy for rectal cancer[J]. Radiother Oncol, 1995, 37(1): 13 - 17.

[8] Burneckis A, Atkoius V, Sinkevicius Z. Preperative radiotherapy in the treatment of rectal carcinoma[A]. In·Jacel GW. Californium-252 isotope for 21stcentury radiotherap[M]. Defroit: Kluwer Academic Publishers. 1996. 199 - 202.

[9] Patchell RA, Maruyama Y, Tibbs PA, et al. Neutron interstitial brachytherapy for malignant gliomas: a pilot study[J]. J-Neurosurg, 1988, 68(1): 67 - 72.

[10] Patchell RA, Yaes RJ, Beach L, et al. A phase I trial of neutron brachytherapy for the treatment of malignant gliomas[J]. Br J Radiol, 1997, 70(839): 1162 - 1168.

(编辑:张集建)

登革病毒动物模型的研究进展

Advances in studies of animal models for dengue virus infection

李 杰[1],彭 涛[2],安 静[2]
(1.第三军医大学学员旅二队;2.第三军医大学基础医学部微生物学教研室,重庆 400038)

[关键词] 登革病毒;动物模型
[中图分类号] R373.33 [文献标识码] B [文章编号] 1672 - 5042(2004)06 - 0421 - 03

登革病毒(dengue virus)属于黄病毒属,是一种以蚊虫为传播媒介的RNA病毒。根据E蛋白抗原性的不同,登革病毒被分为四个血清型(DEN-1,2,3,4)[1-2],它威胁着数以亿计的、居住在热带和亚热带地区的人们的健康。引起登革热(dengue fever,DF)和登革出血热(dengue hemorrhagic fever,DHF),前者是一种轻型的发热性疾病,而后者则是一种威胁患者生命的综合症,死亡率较高。由于登革病毒的天然宿主只有人、蚊虫以及低等灵长类动物(恒河猴等),且低等灵长类动物在感染登革病毒后所表现出的症状与人类相去甚远,所以一直缺少合适的动物模型,用于DHF的发病机理的研究和疫苗的检测。自1983年,严重联合免疫缺陷小鼠(SICD)[3]问世以来,一些学者先后建立了登革病毒感染的小动物模型,本文就此做一综述。

[收稿日期] 2004 - 03 - 09 [修回日期] 2004 - 07 - 28

1 免疫缺陷小鼠建立登革病毒感染模型

研究认为人外周血淋巴细胞可能是登革病毒的重要靶细胞之一,而且严重联合免疫缺陷小鼠由于T、B细胞功能均缺乏,对移植入其体内的异种组织细胞排斥反应较弱。基于这一考虑,将人外周血淋巴细胞(hu-PBL)通过尾静脉注射,移植入SICD,建立了hu-PBL-SCID[4],通过检测小鼠血清中hu-PBL细胞产生的免疫球蛋白确定移植的成功,换言之,该小鼠的免疫系统已被人类的免疫系统所代替。在确定移植成功后,腹腔接种DEN-1,仅极少量hu-PBL-SCID表现出感染症状,且从接种到小鼠表现出症状需较长时间,24 ~ 53 d不等。可见,hu-PBL-SCID对登革病毒的敏感性较低。由于感染后发病率低、发病时

维普资讯 http://www.cqvip.com

间分散，所以该模型的应用受到了限制。

临床研究表明，DHF患者常有肝区疼痛、黄疸、肝肿大，并可从死亡患者的肝脏内分离到登革病毒[5-6]，说明肝脏是登革病毒的重要靶器官之一。最近的实验证明人类肝癌细胞（human hepatocarcinoma cell line, HepG2）支持登革病毒的增殖[7-9]。为此，Anjing等将HepG2细胞移植入SCID体内，建立HepG2-grafted mice[10]。通过检测小鼠血清中由HepG2细胞分泌的人血清白蛋白(hALB)确定移植状况及HepG2细胞在SCID体内的生长。腹腔内接种II型登革病毒后，在整个感染过程中病毒血症阳性，HepG2-grafted mice在感染后11 d出现后肢麻痹并于13～18 d死亡。说明HepG2-grafted mice对登革病毒有较高的敏感性。临床检测发现，HepG2-Grafted mice血小板数感染后第5天开始减少，13～18 d降到最低水平，小鼠的部分凝血时间(partial thromplastin time, Ptt)延长，血液中红细胞比容(hematocrit, Ht)增加。血中的肿瘤坏死因子α(TNF-α)及尿素氮含量在登革病毒感染后期明显增加。上述症状与人类的登革出血热症状相似，所以HepG2-Grafred mice对研究登革病毒的致病机制具有较好的价值。但是由于SCID免疫功能不健全，而免疫病理反应又是DHF的主要病因之一，所以，HepG2-grafted mice作为登革病毒动物模型也存在着一定的局限性。

K562细胞是一种对登革病毒敏感的白血病细胞株，将其移植入SCID后，可制成对登革病毒敏感的K562-SCID mice[11]。经腹腔接种登革病毒，K562-SCID mice的血液和脑中可检测到较高的病毒滴度，K562-SCID mice在临床症状和死亡时间上与HepG2-grafted mice很相似，说明登革病毒在K562-SCID mice体内进行了复制。给K562-SCID mice接种不同血清型的登革病毒，其死亡率不同，表明K562-SCID mice可用来检测不同登革病毒的毒力。另外，在给K562 SCID mice接种登革病毒的同时注射抗体，其感染症状的发生推迟，这表明K562-SCID mice也可用来检测抗体对登革病毒感染的保护作用。但同样由于K562-SCID mice免疫功能不健全，使其应用受到限制。

2 BALB/c小鼠模型

四周龄的BALB/c小鼠对DEN-2（P23083株）敏感，腹腔内接种5 LD50剂量的DEN-2（P23083株），该小鼠在感染后4 d表现出躬背、皮毛不整、行动迟缓等症状，在7 d100%死亡[12]。在死亡之前，该小鼠出现出血性综合征和后肢瘫痪。临床参数检测发现，在感染登革病毒后2 d，小鼠血清中出现病毒，此后病毒滴度越来越高，第6天时达峰值。同时感染小鼠血小板数和红细胞数明显减少，第6天时降至最低水平。最有趣的变化是，在四周龄的BALB/c小鼠死亡之前，血清TNF-α的量急剧增加，注射抗TNF-α抗体后，小鼠的死亡率下降到40%，说明TNF-α是导致四周龄的BALB/c小鼠死亡的一个重要因素。给感染登革病毒的四周龄的BALB/c小鼠注射具有抑制TNF-α的作用的盐酸四环素，其死亡率下降45%，证实了TNF-α对四周龄的BALB/c小鼠的致病作用。

上述结果表明四周龄的BALB/c小鼠对DEN-2(P23083株)感染的敏感性，且感染症状与人的登革病毒感染相似，同时由于其具有正常的免疫功能，对于研究登革病毒感染中的免疫病理机制具有重要价值。然而，由于四周龄的BALB/c小鼠仅对DEN-2（P23083株）敏感，对其它登革病毒株的感染不敏感，这严重地限制了该模型的使用范围。

3 基因敲除小鼠（AG129小鼠）模型

在登革病毒疫苗检测过程中，由于实验动物体内干扰素(IFN)的作用，使得正确评价疫苗的作用很困难。AG129小鼠是一种基因敲除的小鼠，缺少IFN-α、β基因及IFN-γ受体基因，且对登革病毒感染具有较高的敏感性[13]。给AG129小鼠注射DEN-2，7 d时所有小鼠后肢瘫痪且失明，12 d时死亡。由于体内缺乏IFN-α、β基因以及IFN-γ受体基因，使登革病毒诱生机体产生的干扰素不能发挥作用，这对于登革病毒疫苗效力的检测有重要价值。分别给A129（缺乏IFN-α、β受体）、GKO（不能合成INF-γ）及BALB/c小鼠注射相同剂量的登革病毒，都没有表现出感染的症状，仅AG129小鼠表现出感染症状，说明IFN-α、β、γ作用同时异常的小鼠才对登革病毒敏感，AG129小鼠在登革病毒致病机制和疫苗检测的研究中可能有一定作用。

4 A/J小鼠模型（murine model）

给具有免疫活性的小鼠静脉内注射DEN-2，2～3周时小鼠表现出截瘫，而对照组小鼠则没有此现象，但A/J小鼠的截瘫症状在一个月后可恢复[14]。仅在感染后2 d的小鼠血液中检测到登革病毒的RNA。在接种病毒后10～13 d，小鼠出现短暂的血小板减少症。有趣的是，两个月后重新注射DEN-2，在注射后第10到13天，小鼠出现血小板减少，并检测到其血液中存在抗血小板抗体，而没有感染过的登革病毒的小鼠抗血小板抗体阴性。研究表明抗血小板抗体在接种登革病毒的第4天已经产生。该模型对于研究登革出血热的发病机制，特别是登革出血热中的血小板减少症的发病机制具有较好的意义。该模型的优点在于A/J小鼠具有正常的免疫功能，可用来研究登革病毒感染中的免疫病理反应的发生规律等。不足的是该小鼠需较大剂量的病毒才能引起感染，而且登革病毒感染引起的病毒血症没有HepG2-grafted mice和K562-SCID mice中的明显，且持续时间短，不能从感染小鼠血液中分离出登革病毒，必须用RT-PCR技术才可检测出登革病毒的RNA，这又降低了该动物模型的应用价值。

[参考文献]

[1] Kobayashi N, Thayan R, Sugimoto C, et al. Type-3 dengue viruses responsible for the dengue epidemic in Malaysia during 1993－1994[J]. Am J Trop Med Hyg, 1999, 60(6): 904－909.

[2] Twiddy SS, Woelk CH, Holmes EC. Phylogenetic evidence for adaptive evolution of dengue viruses in nature[J]. J Gen Virol, 2002, 83(Pt7): 1679－1689.

[3] Bosma GC, Custer RP, Bosma MJ. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse[J]. Nature, 1983, 301(5900): 527－530.

[4] Wu SJ, Hayes CG, Dubois DR, et al. Evaluation of the severe

维普资讯 http://www.cqvip.com

combined immunodeficient (SCID) mouse as an animal model for dengue viral infection[J]. Am J Trop Med Hyg, 1995, 52(5): 468-476.

[5] Pancharoen C, Mekmullica J, Thisyakorn U. Primary dengue infection: what are the clinical distinctions from secondary infection? [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2001, 32(3): 476-480.

[6] Liam CK, Yap BH, Lam SK. Dengue fever complicated by pulmonary haemorrhage manifesting as haemoptysis[J]. J Trop Med Hyg, 1993, 96(3): 197-200.

[7] Lucia HL, Kangwanpong D. Identification of dengue virus-infected cells in paraffin-embedded tissue using in situ polymerase chain reaction and DNA hybridization[J]. J Virol Methods, 1994, 48(1):1-8.

[8] Marianneau P, Megret F, Olivier R, et al. Dengue 1 virus binding to human hepatoma HepG2 and simian Vero cell surfaces differs[J]. J Gen Virol, 1996, 77(Pt10):2547-2554.

[9] Marianneau P, Cardona A, Edelman L, et al. Dengue virus replication in human hepatoma cells activates NF-kappaB which in turn induces apoptotic cell death[J]. J Virol, 1997, 71(4):3244-3249.

[10] An J, Kimura Kuroda Y, Hirabayashi Y, et al. Development of a novel mouse model for dengue virus infection[J]. Virology, 1999, 263(1):70-77.

[11] Lin YL, Liao CL, Chen LK, et al. Study of dengue virus infection in SCID mice engrafted with human K562 cells[J]. J Virol, 1998, 72(12):9729-7937.

[12] Alena AA, Peter P. Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in experimental dengue virus infection[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2003, 35(1):33-42.

[13] Johnson AJ, Roehrig JT. New mouse model for dengue virus vaccine testing[J]. J Virol, 1999, 73(1):783-786.

[14] Huang KJ, Li SY, Chen SC, et al. Manifestation of thrombocytopenia in dengue-2-virus-infected mice[J]. J Gen Virol, 2000, 81(Pt9):2177-2182.

(编辑:蒋登金)

内耳圆窗膜解剖

Anatomy of the round window membrane of internal ear

王宜南,刘兆华
(第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所耳鼻咽喉头颈外科,重庆 400042)

[关键词] 圆窗膜;内耳;解剖
[中图分类号] R322.9 [文献标识码] B [文章编号]1672-5042(2004)06-0423-03

圆窗膜是间隔于中耳和内耳之间的重要屏障,其结构及正常的功能对保证内耳正常生理功能具有重要意义。准确测量圆窗膜的面积和形态有助于对其进行深入的病理生理学研究,进而计算圆窗膜在病理状态下对各种物质的转运速率,测试内耳各腔隙离子浓度变化等,为阐明中耳和内耳疾病的相互影响,中耳腔内毒素和药物等影响内耳功能的机理,及更好的开展内耳显微手术,电子耳蜗手术等治疗奠定基础。

1 圆窗膜的组织学结构

圆窗膜附着于鼓室内壁的圆窗龛内,介于鼓室与耳蜗之间,是中耳与内耳之间的软组织屏障,又称第二鼓膜。其结构菲薄。人、猴、猫和啮齿动物的圆窗膜超微结构的研究提示,人和动物的圆窗膜均包括三层基本结构:与中耳粘膜上皮相连的外上皮层、核心的结缔组织层和与内耳上皮相连续的内上皮层。

圆窗膜在不同种属之间的差异主要在于其厚度及形状不同,人的圆窗膜最厚而啮齿动物最薄[1-2]。就其大体形状而言,圆窗膜在不同种、属之间,甚至在不同族群之间其形状是不同的,有圆形、椭圆形、肾形、水滴形以及三角形等。

圆窗膜对维持中耳和内耳正常生理具有重要作用,当其发生损伤破裂、厚度增加、弹性降低、位置异常、通透性改变和圆窗膜反射失常等病理生理变化时,可引起一系列疾病:如突发性耳聋,慢性进行性波动性感音神经性耳聋,与 Meniere 病有关的外淋巴瘘等,急慢性中耳炎引起的感音神经性耳聋与圆窗龛和圆窗膜的异常关系也十分密切。药物、示踪剂自中耳均经圆窗膜扩散进入内耳[1],其通透性与治疗效果密切相关。

2 圆窗膜的定量解剖

大样本的测量显示正常人圆窗膜的面积约 2 mm^2,平均厚度约 70 μm[3]。刘兆华[4]观察 26 具中国人颞骨圆窗龛,其横径平均值 1.14 mm(0.8~1.35 mm),上下径平均值 1.65 mm(1.65~2.20 mm),圆窗膜下缘至后壶腹神经近端的距离平均为 1.19 mm(0.35~2.35 mm)。1952 年,Fernandez 假设圆窗膜的外型为椭圆形,测量出豚鼠圆窗膜的面积为 1.02 mm^2;Takahashi[5-6] 发

[收稿日期] 2004-06-23 [修回日期] 2004-09-30