DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.05.001
第25卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 5
2003年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2003

研究快报

文章编号:1000-5404(2003)05-封2-01

HBV感染的人鼠嵌合肝动物模型的建立

Establishment of an animal model of chimeric human liver in normal rats

蒋 黎,毛 青,王宇明,李俊刚,刘 俊 (第三军医大学附属西南医院全军感染病研究所,重庆 400038)

乙型肝炎病毒(HBV)感染所致的乙型病毒性肝炎,发病率高、危害大。但因缺乏有效的体内研究系统而阻碍了对病毒性肝炎防治的革新与发展。我们采用人胎肝细胞诱导胎鼠对人肝细胞产生免疫耐受的方法,建立人鼠嵌合肝(Chimeric human liver in normal rats)。而后接种HBV感染血清,旨在建立HBV感染的人鼠嵌合肝动物模型。现对我们目前的研究进展作一阶段性报道。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar孕鼠,体质量150~250 g,孕龄14~18 d,由本校实验动物中心提供。免疫组化S-P试剂盒、单克隆鼠抗人CK18抗体、单克隆鼠抗HBsAg抗体及DAB显色剂均为Maixin公司产品。酶联免疫反应(ELISA)乙肝病毒检测试剂盒购于北京中山生物公司,HBV DNA定量检测采用Roche公司荧光定量PCR仪。

1.2 方法

在无菌操作下,暴露孕鼠子宫,对胎鼠逐一腹腔内注射人胎肝细胞。逐层缝合,让孕鼠自然生产。

胎鼠出生后24 h内给新生小鼠脾内注射人胎肝细胞,1周后给嵌合鼠肌肉或腹腔内接种慢性乙型肝炎病人的血清。血清病毒标志为HBV表面抗原(HBsAg)、e抗原(HBeAg)及核心抗体(抗HBc)阳性,HBV DNA为7.154E+07。

1.3 检测

嵌合鼠肝组织部分切除,石蜡包埋切片做免疫组化(按照S-P试剂盒的步骤),检测人细胞角蛋白(CK18)及HBsAg。分别以CK18、HBsAg阳性石蜡切片(购于Maixin公司)和正常人、慢性乙型肝炎患者肝组织为阳性对照,正常大鼠肝组织为阴性对照。

2 结果与讨论

受病毒感染宿主的范围所限,利用组织培养细胞来了解人类嗜肝病毒的复制、转录,有别于原位肝细胞那样保持同样的遗传性;感染灵长类动物如黑猩猩较为理想,但黑猩猩数量有限,而且无论从伦理还是从经济因素来考虑,用灵长类动物模型作为研究存在限制。近年来转基因小鼠被运用于HBV和丙型肝炎病毒(HCV)的一些基础性的研究,不过它并不能完全模拟HBV复制全过程,某些测定结果尚存争议。免疫系统在出生后不久就可区分"自我"和"非我",所以如果动物在胚胎发育时期接触到外来抗原,他们会逐渐对这些抗原产生耐受[1];因此,我们先用人胎肝细胞诱导胎鼠对人肝细胞产生免疫耐受,后把人肝细胞移植到正常大鼠肝内,从而建立针对移植物耐受的动物模型[2]。由于嵌合于鼠肝脏中的是正常人肝细胞,能够模拟病毒感染的全过程,为研究免疫反应、发病机制、抗病毒治疗和开发强效疫苗开辟了道路[3]。

CK18被认为是人肝细胞型细胞角蛋白,在正常大鼠肝组织中不表达。我们在大鼠肝组织中检测到CK18的表达,见图1,可以推断人肝细胞在大鼠肝组织中存在;另外HBsAg在大鼠肝组织中的表达,见图2,可以初步作为嵌合于鼠肝中人肝细胞感染HBV的证据。不过人鼠嵌合肝中人肝细胞的数量、活性以及感染率如何,病毒血症的持续、消长状况等还需要大量的工作来进一步完善,最终希望获得稳定的人鼠嵌合肝模型并运用到更广泛的研究中去。

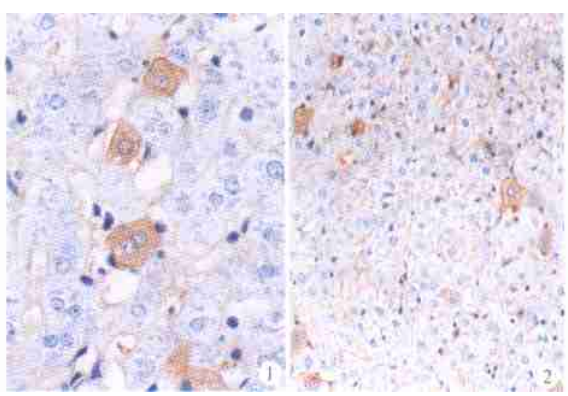


图1 图中棕黄色为嵌合鼠肝组织**HBsAg**阳性细胞 (S-P× 400)
图2 图中棕黄色为嵌合鼠肝组织**CK18**阳性细胞 (S-P× 200)

关键词:动物模型;乙肝病毒;人鼠嵌合肝
中图法分类号:R-332;R512.6

参考文献:

[1] Yuh D D, Reitz B A, Gandy K L, *et al*. A rodent model of in utero chimeric tolerance induction[J]. J Heart Lung Transplant, 1997, 16(2): 222—230.
[2] Wu C H, Ouyang E C, Walton C, *et al*. Liver cell transplantation-novel animal model for human hepatic viral infections[J]. Croat Med J, 2001, 42(4): 446—450.
[3] 蒋 黎,毛 青. 人鼠嵌合肝-研究肝脏病学的新工具[J]. 国外医学流行病学和传染病学分册,2002,29(4):197—200.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271173)
作者简介:蒋 黎(1974—),女,重庆市人,硕士研究生,医师,主要从事病毒性肝炎发病机制方面的研究。电话:(023)68754475—8007
通信作者:毛 青,电话:(023)68754142
收稿日期:2003-01-17;修回日期:2003-02-25
(编辑 王 红)

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