

巨细胞病毒感染对新生豚鼠胸腺的影响

郑志明

(湖北医学院病毒研究所, 武汉)

B. P. Griffith

(美国耶鲁大学医学院, 美国)

提 要

新生豚鼠皮下接种豚鼠巨细胞病毒(GPCMV)后, 导致动物胸腺急性感染。感染豚鼠胸腺在接种后第五天开始出现病毒, 第十天达高峰。此外, 感染动物胸腺的发育受到抑制, 细胞总数和T淋巴细胞数随胸腺中病毒滴度的增高而进行性下降, 至接种GPCMV后第十天最显著。由于病毒对T细胞的作用, 细胞表面红细胞受体的丧失导致胸腺Null细胞百分比高于对照动物。

新生儿巨细胞病毒(CMV)感染常导致机体细胞免疫功能低下^[1,2]。实验曾观察到成年豚鼠体内接种CMV后5~7天, 88%的动物胸腺有可检测到的病毒^[3], 脾脏淋巴细胞对ConA的增殖反应下降^[4]。为了进一步明确CMV感染导致细胞免疫抑制的机理, 我们采用新生豚鼠作为CMV感染的动物模型, 研究了急性CMV感染期间豚鼠胸腺及其细胞的变化, 现报告如下:

材料与方 法

一、病毒:

豚鼠CMV(GPCMV)标准株22122得自ATCC, 在豚鼠唾液腺传6—7代后的病毒悬液作为毒种(GPCMV-SG), 滴度为 $6.5 \sim 7.0 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 。

二、动物接种:

采用10日龄Hantley豚鼠, 皮下接种1ml病毒悬液, 日龄相同的对照豚鼠皮下接种1ml 10%正常豚鼠唾液腺悬液。

三、胸腺细胞悬液的制备:

定期心脏放血处死感染和对照动物, 无菌取出胸腺, 按文献方法^[5]制备细胞悬液。

本稿于1986年3月31日收到

四、胸腺病毒滴定:

将胸腺细胞悬液按 $10^{-1} \sim 10^{-6}$ 进行连续10倍稀释后,每一稀释度取0.4ml 接种24孔板豚鼠胚细胞(GPE)单层,每孔0.1ml, 37°C 吸附60分钟后,每孔加1ml含5%小牛血清的MEME培养维持液,置 CO_2 孵箱培养,24小时后换液一次,隔一周加一次新鲜培养液,连续观察一个月。

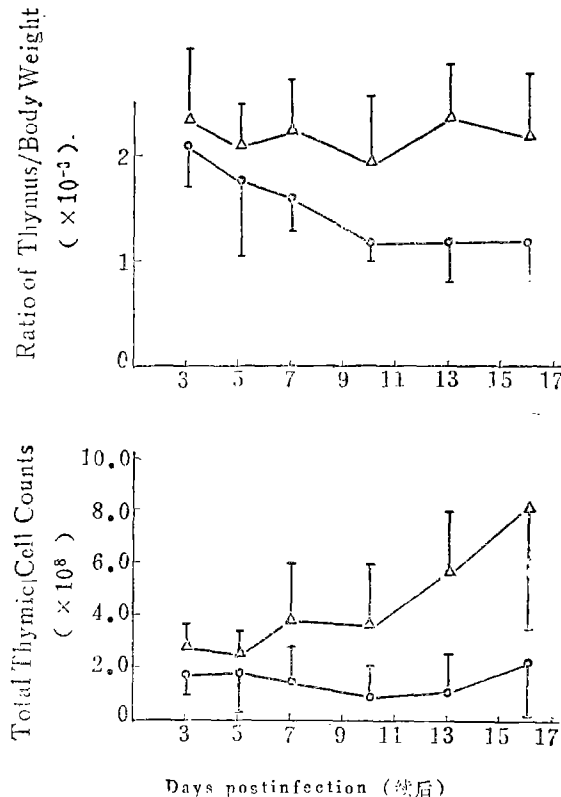
五、胸腺T、B、吞噬细胞测定:

见文献^[5-7]。

结 果

一、急性CMV感染对新生豚鼠胸腺重量、细胞总数及存活率的影响:

在急性CMV感染期,新生豚鼠胸腺的发育受到抑制,重量迅速下降,胸腺细胞数减少,细胞存活率较同日龄对照动物低。至接种GPCMV 10天后,胸腺与体重之比才保持在一稳定、低于同日龄对照动物约一倍的水平,胸腺细胞总数则较同日龄对照动物约低3~4倍(图1)。



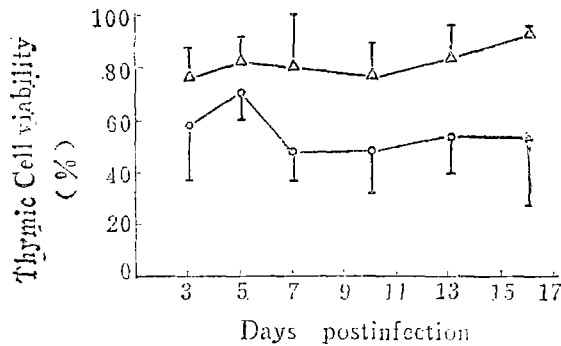


图1. 急性 CMV 感染期间 CMV 对新生豚鼠胸腺的影响
Figure 1. Effect of CMV on newborn guinea Pig thymus during acute CMV infection
o—o Inoculated with GPCMV-SG
△—△ Inoculated with uninfected salivary gland suspension.
Each point included 4—5 guinea pigs.

二、新生豚鼠急性 CMV 感染期间胸腺中的病毒含量:

将 5×10^6 胸腺细胞悬液接种 GPE 细胞测其病毒滴度显示, 新生豚鼠在接种 GPCMV 后第 3 天, 胸腺中没有可检出的感染性病毒。感染性病毒在胸腺中出现于接种 GPCMV 后第 5 天, 以后逐渐随接种 GPCMV 后天数的增加而上升。至第 10 天, 胸腺感染性病毒滴度达高峰 (图 2)。然后, 滴度逐渐下降。

三、急性 CMV 感染对新生豚鼠胸腺 T 细胞的影响

共检测 24 只 GPCMV 感染豚鼠和 12 只同年龄对照豚鼠。结果显示, 24 只豚鼠感染

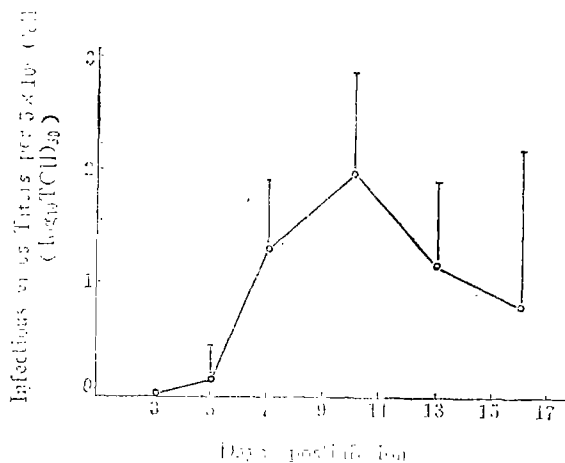


图2. 在急性CMV感染期间豚鼠胸腺的病毒含量
Figure 2. Recovery of infectious viruses from the thymus of GPCMV-infected guinea pigs during acute CMV infection

GPCMV 后, 胸腺 T 细胞总数平均为 $1.06 \pm 0.89 \times 10^8$, 而 12 只同日龄对照豚鼠胸腺 T 细胞总数为 $3.20 \pm 2.15 \times 10^8$, 二者的差别具有高度显著性 ($P < 0.01$)。对胸腺 T 细胞总数进行动态分析 (图 3, 表 1) 可见, 在接种 GPCMV 后第 3、5、7、10、13、

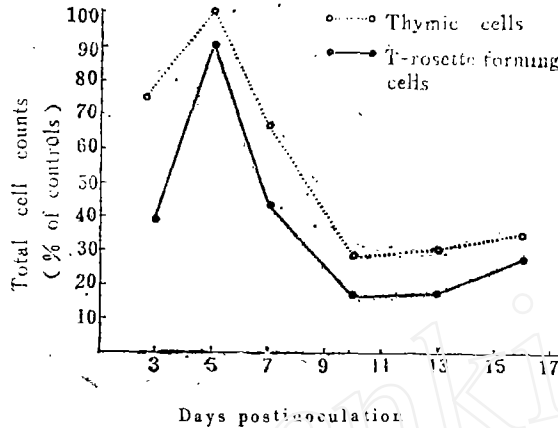


图3. 在急性CMV感染期间豚鼠胸腺细胞和胸腺T细胞的变化

Figure 3. Alteration of thymic cells and T-rosette forming cells in CPCMV-infected guinea pigs during acute CMV infection

表1. 在急性CMV感染期间新生豚鼠胸腺的T细胞计数

Table 1. Thymic T-rosette forming cells in the newborn guinea pigs with acute cytomegalovirus infection

Days postinoculation	Salivary gland preparation used for inoculation	NO. of guinea pigs studied	T-rosette forming cells	
			Total ($\times 10^6$)	% of thymic cells
3	Infectious	4	0.66 ± 0.26	38.87 ± 20.91
	Uninfectious	2	1.68 ± 0.21	62.25 ± 24.40
5	Infectious	4	1.72 ± 1.03	65.00 ± 5.55
	Uninfectious	2	1.92 ± 0.21	71.00 ± 1.24
7	Infectious	4	1.06 ± 0.90	47.08 ± 10.39
	Uninfectious	2	2.45 ± 0.32	77.50 ± 1.41
10	Infectious	4	0.64 ± 0.59	46.58 ± 12.53
	Uninfectious	2	3.75 ± 2.28	77.25 ± 2.43
13	Infectious	4	0.68 ± 0.78	34.92 ± 16.73
	Uninfectious	2	3.84 ± 2.49	74.65 ± 7.57
16	Infectious	4	1.57 ± 1.25	53.00 ± 7.94
	Uninfectious	2	5.56 ± 1.18	64.15 ± 15.77

* Infectious salivary gland suspension contained $6.5-7.0 \text{ Log}_{10} \text{TCID}_{50}$ of guinea pig CMV; Uninfectious salivary gland suspension contained no detectable infectious viruses.

16天, 感染动物胸腺 T 细胞总数仅分别是同日龄对照动物的 39.3、89.6、43.3、17.1、17.7、28.2%。其中, 以接种 GPCMV 后第10天的 T 细胞总数下降最显著。此种动态曲线与胸腺细胞总数的动态改变相一致。

四、急性 CMV 感染与胸腺 B 细胞、吞噬细胞和 Null 细胞

不管是 GPCMV 感染的动物还是正常同日龄对照动物, 其胸腺中 B 细胞和吞噬细胞所占的百分比(分别为 1~4% 和 0~1%) 甚低。然而, 在新生豚鼠感染 GPCMV 后, 胸腺 Null 细胞百分比 ($52.4 \pm 15.5\%$) 较正常对照动物 ($28.9 \pm 11.1\%$) 高(图 4), 其差异在接种 GPCMV 后第 7~13 天较显著 ($P < 0.01$)。

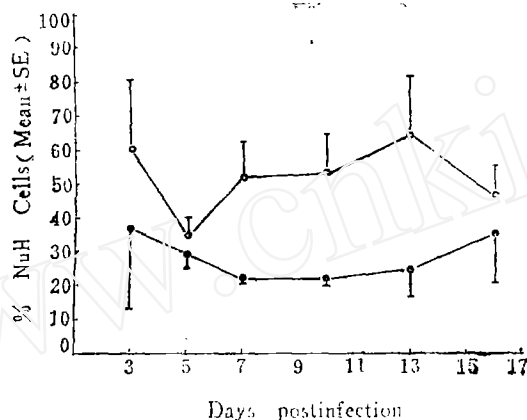


图4. 在急性CMV感染期间豚鼠胸腺Null细胞的变化
Figure 4. Alteration of thymic Null cells in guinea pigs
○—○ GPCMV infected (four of each point)
●—● Age-matched controls (two of each point)

讨 论

胸腺作为中央淋巴器官, 是 T 淋巴细胞来源的主要场所, 在机体抗病毒免疫中起重要作用。本文采用 GPCMV 感染的实验动物模型, 观察新生豚鼠感染 GPCMV 后, 病毒对胸腺的影响表明, 在急性 GPCMV 感染期, 胸腺有下述变化: (1) GPCMV 可在胸腺中繁殖, 增殖高峰为接种后第10天; (2) T 细胞数减少, 以接种 GPCMV 后第10天最显著; (3) Null 细胞百分比增加, 但 B 细胞和吞噬细胞则无改变; (4) 胸腺重量下降, 细胞存活率低。结果提示, 胸腺可作为 GPCMV 感染的靶器官, 是动物感染 CMV 后导致细胞免疫功能低下的主要原因。

在急性 GPCMV 感染期间, 从胸腺细胞分离病毒提示, 病毒在胸腺细胞存在有二种可能方式: 一是存在于细胞内, 并可增殖; 二是存在于细胞表面, 由细胞所携带, 但不易洗脱。不管何种方式, 均可能影响细胞表面的红细胞受体, 从而导致红细胞花环形成能力丧失, 形成所谓的“Null”细胞。根据胸腺细胞中病毒滴度的改变, 以及感染动物胸腺细胞存活率下降的结果, 同时基于小鼠^[8]和新生豚鼠^[9]脾脏 T、B、巨噬细

胞均可检出病毒的研究, 我们认为, 在急性 GPCMV 感染期间, 胸腺 T 淋巴细胞可作为 CMV 增殖的允许细胞而不是携带者。然而, 在胸腺细胞中 GPCMV 出现前, 即接种 GPCMV 后第 3 天, 无论是胸腺细胞总数还是 T 细胞数均较 GPCMV 出现时的第 5 天低, 其原因尚有待研究。

参 考 文 献

- [1] Reynolds D.W. et al., 1979, *J Infect Dis* 140:493.
- [2] Starr S.E. et al., 1979, *J Infect Dis* 140:500.
- [3] Griffith B.P. et al., 1981, *Infect Immun* 32:857.
- [4] Griffith B.P. et al., 1984, *Cell Immunol* 87:727.
- [5] 郑志明等, 1986, *湖北医学院学报*, 7: 133.
- [6] 郑志明等, 1986, *上海免疫学杂志*, 6: 283.
- [7] 郑志明, 1986, *科学通报*, 31:390.
- [8] Wu B.C. et al., 1979, *Infect Immun* 24:856.
- [9] 郑志明等, 1987, *病毒学报*, 待发表.

EFFECT OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION ON THE THYMUS OF NEONATAL GUINEA PIGS

Zheng Zhi-ming, B.P. Griffith

(*Virus Research Institute, Hubei Medical College, Wuhan, and Yale University, School of Medicine, New Haven, CT 06510, USA*)

Sc. inoculation of neonatal guinea pigs with guinea pig cytomegalovirus (GPCMV) resulted in acute infection of thymus. Infectious virus could be recovered from the thymus of infected animals at 5 days postinfection and the highest titers of infectious virus appeared at 10 days postinfection. The weights, total numbers of cells and T-rosette forming cells were significantly lower in the thymus of GPCMV-infected animals tested on days 7 to 16, specially on day 10 postinfection as compared to control animals. Although no alterations of the numbers of B lymphocytes and phagocytes were observed in the thymus of infected animals, the percentages of thymic Null cells were higher in GPCMV-infected animals than in controls since GPCMV-infected T lymphocytes and might result in the loss of rabbit red blood cells receptors on the surface of T cells.

KEY WORDS: Guinea pig cytomegalovirus; Neonatal guinea pigs; Thymus; Acute cytomegalovirus infection; T lymphocytes.