

## 豚鼠妊娠期感染巨细胞病毒的研究

陈 曼

(湖北医学院病毒研究所, 武汉430071)

### 提 要

本实验观察了豚鼠巨细胞病毒感染对怀孕豚鼠的影响。从皮下和心脏接种病毒感染动物, 接种病毒的时间在动物妊娠早期。接种病毒后, 二组动物都出现病毒血症, 从动物的脾、肺和唾液腺均分离到病毒。病毒在唾液腺持续存在。皮下接种组和心脏接种组各有38%和44%的孕鼠的胚胎感染了病毒, 各有27%和25%的孕鼠发生流产, 皮下接种组还有63%的孕鼠怀有死胎。本实验为研究巨细胞病毒感染提供了动物模型, 证实了血源途径也可以引起豚鼠的先天性巨细胞病毒感染。

**关键词:** 豚鼠动物模型 妊娠期巨细胞病毒感染

人类巨细胞病毒感染是先天性病毒性疾病的主要原因之一<sup>[1,2]</sup>, 累计有0.5%—2.4%的新生儿。人类巨细胞病毒感染一般不表现出严重症状, 使巨细胞病毒感染的发病机理方面的研究受到一定的限制。豚鼠巨细胞病毒感染与人类巨细胞病毒感染相似, 是研究人类巨细胞病毒感染的实验模型<sup>[3,6,7]</sup>。本研究在豚鼠巨细胞病毒感染的模型上, 进行了豚鼠妊娠期感染巨细胞病毒的研究, 从皮下接种和心脏接种两种途径感染动物, 观察了豚鼠巨细胞病毒感染对孕豚鼠的影响。

### 材 料 与 方 法

**一、动物接种** 豚鼠巨细胞病毒株 (prototype No. 22122 ATCC, Rockville MD) 用于实验。毒种的制备和贮存见参考文献<sup>[5]</sup>, 毒种的传代水平为28代。病毒滴度为 $10^6 \sim 10^7$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml, Hartley 怀孕豚鼠购自 Comm Research Institute (Wayne, N.J.)。在接种病毒以前, 所有动物都进行血清抗豚鼠巨细胞病毒抗体的检查, 血清抗体检查阴性者用于实验。实验动物组分为二组: (1) 皮下接种组: 右腋窝皮下接种 $10^6$ /ml 病毒; (2) 心脏接种组: 麻醉动物, 心脏接种 $10^6$ /ml 病毒。

**二、细胞培养** 鼠豚胚胎原代及次代细胞用于病毒分离和抗体检测。20~40日胚龄的豚胚用于制备豚鼠胚胎细胞培养, 方法见参考文献<sup>[4]</sup>。细胞生长在7%小牛血清 Eagle's 培养液, 待细胞长成单层后, 更换为5%小牛血清 Eagle's 维持液。

### 三、病毒学研究

(一) 病毒血症检查: 动物接种病毒后第7、14、21、28、35和42天, 麻醉动物, 从心脏取血, 按

本文于1980年4月13日收到

本实验在美国耶鲁大学医学院 Dr. G. D. Hanson 实验室完成, 特此致谢。

种豚鼠胚胎细胞培养, 连续四星期观察细胞病变, 以确定有无病毒血症。

(二) 动物组织脏器的病毒分离: 接种病毒后约第 10、20、30、40 和 50 天, 每组各取 1~2 个动物处死, 以无菌技术取出母鼠的唾液腺、脾脏和胎盘组织、以及胚胎的唾液腺, 脑组织, 脏器混合物(脾、肺、肾和肝脏), 磨碎, 制成 10% 悬液, 接种豚鼠胚胎细胞, 培养四星期观察细胞病变。

所有阳性分离物用抗豚鼠巨细胞病毒特异性免疫血清作病毒鉴定。

**四、抗体检测** 全部动物在接种病毒以前和处死时, 皆收集血液标本进行抗豚鼠细胞病毒特异性中和抗体的检测。方法如下: 以不同稀释度的动物血清和 100PFU 病毒混匀, 置室温一小时后, 加于豚鼠胚胎细胞, 让其吸附一小时, 然后用 10% 小牛血清 Egle's 培养液和 0.5% 甲基纤维素覆盖, 37°C 培养 8~10 天。用 2.6% 结晶紫染色后观察, 以达到 80% 的空斑减少的血清稀释度作为抗体的终点滴度。

## 结 果

### 一、病毒血症出现率

如表 1 所示, 皮下接种组和心内接种组病毒血症的出现和持续时间相似, 即第一周检查皆为 100%, 第二周降低, 以后逐渐转阴, 第四周又有个别为病毒血症阳性。

表 1 病毒血症检查  
Table 1 Rates of viremia in pregnant guinea pig

感染途径	病毒血症率% (试验的动物数)				
	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
皮下接种	100(12)	30(10)	0(10)	11(9)	0(6)
心腔接种	100(12)	55(11)	0(10)	10(10)	0(7)

表 2 孕豚鼠脏器中的病毒检查  
Table 2 Recovery of guinea pig cytomegalovirus from tissues of guinea pigs

感染途径	接种动物后的天数	病毒分离阳性的动物数/检查的动物数				中和抗体滴度
		唾液腺	脾 脏	肺 脏		
皮下接种	10	1/1	1/1	1/1	<10	
	20	1/1	1/1	1/1	20	
	30	3/3	1/3	2/3	10-320	
	40	4/4	2/4	2/4	40-320	
	50	2/2	0/2	0/2	40-80	
心脏接种	10	1/1	1/1	1/1	<10	
	20	1/1	0/1	1/1	80	
	30	3/3	0/3	3/3	20-320	
	40	3/4	1/4	1/4	10-320	
	50	3/3	0/3	1/3	320	

## 二、病毒在孕鼠组织器官中的分布

从两组动物的脏器中均分离到病毒(见表2), 其中, 皮下接种组, 在接种病毒后第10天到第40天均从动物的脾脏分离到病毒, 心腔接种组的病毒检出率稍低。两组动物的肺脏中的病毒检出率和病毒滴度都比较高。另外, 动物接种后第20天, 检查血清就已出现特异性中和抗体, 以后抗体滴度大多不断上升。随着抗体水平的增高, 动物脾脏和肺脏的病毒减少(有关动物组织脏器内的病毒资料从略)。在动物的唾液腺, 病毒则以高滴度持续存在。

## 三、孕鼠感染对胚胎的影响

实验结果如表3, 可看出皮下接种途径和心腔接种途径感染孕鼠都会影响到胚胎。两组动物都检查出病毒感染的胚胎和胎盘, 并且孕鼠流产率和胚胎感染的孕鼠率都相近, 另外, 皮下接种组63%的动物怀有死胎。

表3 孕豚鼠的巨细胞病毒感染对胚胎的影响  
Table 3 Effects on pregnancy of maternal infection  
with guinea pig cytomegalovirus

感染途径	孕豚鼠的数目			
	有感染胎盘的 /试验的动物数(%)	有感染胚胎的 /试验的动物数(%)	有死胎的 /试验的动物数(%)	流产的 /试验的动物数(%)
皮下接种	5/8(63)	3/8(38)	5/8(63)	3/11(27)
心腔接种	5/9(56)	4/9(44)	0/9(0)	3/12(25)

## 讨 论

本实验观察了豚鼠巨细胞病毒感染对孕豚鼠的影响。以前关于孕豚鼠的巨细胞病毒感染的研究多采用皮下接种和腹腔接种途径<sup>[8,7]</sup>, 鉴于人类巨细胞病毒可以从多种途径感染机体, 病毒侵入机体的门户不同, 最初的易感细胞及病毒在体内的扩散方式不同, 宿主的反应方式也可能有所不同。我们进行了心腔接种感染豚鼠的研究, 同时与皮下接种组进行了比较。

实验中, 皮下接种组和心腔接种组的动物全身都出现持续性的病毒感染。接种病毒后, 病毒很快进入血液循环, 扩散到全身。接种病毒后第7天, 两组动物的病毒血症均为100%, 第10天, 从动物的脾脏、肺脏和唾液腺都查出病毒。接种病毒后第3周, 两组动物的病毒血症检查都为阴性, 但是, 第4周又有个别动物出现病毒血症。这一现象是否意味着豚鼠妊娠期感染巨细胞病毒可能出现第二次病毒血症。还需进一步研究观察, 有研究报道: 豚鼠孕期感染豚鼠巨细胞病毒, 表现出的症状比非妊娠期严重, 孕鼠的死亡率比较高, 出现持续的脾大、间质性肺炎、全身多种脏器都出现组织病理学方面的改变<sup>[8,9]</sup>。本实验的两组动物都出现全身性、持续性的病毒感染, 从动物的多种脏器都分

离到病毒, 唾液腺内有高滴度病毒持续存在。豚鼠孕期感染巨细胞病毒, 其疾病表现比较严重, 这可能与动物孕期体内的激素水平的变化和特异性细胞免疫功能的改变有关。

一般认为, 人类在妊娠早期感染巨细胞病毒容易使胚胎感染。以豚鼠作动物模型, 妊娠早、中、晚期从皮下接种豚鼠巨细胞病毒, 都会使胚胎发生先天性感染<sup>[1]</sup>。本实验的皮下接种组的孕鼠感染豚鼠巨细胞病毒后, 不仅使胚胎发生感染, 而且还发生死胎和孕鼠流产, 心腔接种组也出现胚胎感染和孕鼠流产。当然, 实验感染动物的病毒剂量比人类自然感染的大一些。实验结果说明: 皮下接种和心腔接种感染孕豚鼠都会感染胚胎, 造成孕鼠流产, 皮下接种途径感染孕鼠常引起死胎。

本实验在豚鼠模型上证实了豚鼠巨细胞病毒可以从血源途径和皮下途径感染孕豚鼠, 引起胚胎先天性感染。同时, 为研究先天性巨细胞病毒感染提供了动物模型。

### 参 考 文 献

- [1] Hunsaw, J.B.J., 1971, *Infect Dis*, 123: 555.
- [2] Starr, J.G, et al., 1970, *N.ENG.J.Med*, 282: 1075.
- [3] Griffith, B.P, and Hsiung, G.D., 1980, *J.Infect Dis*, 141: 787.
- [4] Bia, F.J, et al., 1979, *J. Infect. Dis*, 140: 914.
- [5] Griffith, B.P, et al., 1985, *J of Virology*, 55: 402-409.
- [6] Griffith, B.P, et al., 1982, *Pediatr. Res*, 16: 445-459.
- [7] Hsiung, G.D., et al., J, 1978, *Infect. Dis*, 138: 191-196.
- [8] Griffith, B.P, et al., 1978, *J. Pathol*, 125: 1-9.

## Study of Guinea Pig Cytomegalovirus Infection on Pregnancy

Chen Man

(Virus Research Institute, Hubei Medical College, Wuhan 430071)

The effect on pregnant guinea pig of cytomegalovirus infection through subcutaneous(SC) and intracardiac (IC) was evaluated. Animals developed viremia, generalized and persisted infection in two groups. Rates of cytomegalovirus transfer from mother to fetus were 38% and 44% in group SC and IC respectively. Rates of abortion were 27% and 25% in group SC and IC respectively. Still born occurred in rate of 63% in group SC. The study proves that congenital cytomegalovirus infection can be caused by blood transmission and provide an animal model for the study of cytomegalovirus infection.

**Key words:** Guinea pig CMV infection on pregnancy