

## 褐家鼠不同脏器中汉坦病毒自然感染的差异\*

江佳富, 吴晓明, 左曙青, 张泮河, 郭天宇, 曹务春\*\*

(军事医学科学院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京, 100071)

### Detection of Hantavirus RNA in Different Organs of Natural Infected *Rattus norvegicus*

JIANG Jia-fu, WU Xiao-ming, ZUO Shu-qing, ZHANG Pan-he, GUO Tian-yu, CAO Wu-chun\*\*  
(State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science, Beijing, 100071, China)

**Abstract :** In order to understand the genetic diversity and distribution of Hantavirus (HV) in different tissues of wild brown rats, we amplified the partial M segment of HV from various organs of 20 hantavirus positive *Rattus norvegicus* individuals which were collected from Beijing. Then the amplicons were sequenced directly and the genetic variation analysis was made with DNASTAR software. The “A→G” transitional mutations were detected only in the infected lung tissue. We also evaluated the HV quantities in these organs with real time PCR. Significant difference of HV prevalence rates was found among different organs of *R. norvegicus* ( $\chi^2=16.10$ ,  $P=0.003$ ). The virus-loads in lung tissues of natural infected rats were significantly higher than those in other studied tissues. These results suggested that lung tissue of natural infected rat serves as the main target site for HV maintenance and replication; and HV mutation was more prone to occur in lungs. The findings are useful for further research in HV epidemiology and reservoir-HV relationship.

**Key words :** Hantavirus; *Rattus norvegicus*; Real time PCR ; RT-PCR

**摘要 :** 为了解野外褐家鼠不同脏器中自然感染汉坦病毒状况和带毒量的差异, 选取经检测鼠肺组织中 HV-RNA 并呈阳性的鼠个体 20 只, 采用巢式 RT-PCR 检测这些个体心、肝、肺、脾和肾 5 种共 85 份脏器中的 HV, 对阳性标本重复扩增后直接测序, 用 DNASTAR 软件对获得序列进行比较分析。另外, 针对汉城型汉坦病毒株 Z37- M 片段全序列设计定量 PCR 特异性引物, 采用 SYBR Green 实时定量 PCR 法, 检测上述 85 份不同脏器中 HV 带毒量情况与相对差异。结果显示: RT-PCR 对除肺脏之外的其它脏器中 HV-RNA 的检出率较低 (11/65), 不同个体肺组织来源的 HV-M 片段变异较多, 其中 A→G 碱基变异类型占 1/3 强。从 11 份除肺之外的脏器中扩增到的 HV-M 基因序列和其对应同一褐家鼠个体肺脏 HV-M 片段相比, 其碱基差异不大; 一肺脏来源的与该个体其他脏器来源的 HV-M 片段两个位点存在 A→G 差异, 并分别导致两位置氨基酸差异。定量检测结果显示: 褐家鼠不同脏器中 HV-RNA 检出率差异有统计学意义 ( $\chi^2=16.10$ ,  $P=0.003$ ), 总体阳性率大小为肺>肝>肾>心>脾; 肺脏中病毒的分布比其他脏器更为普遍。带毒量也以肺脏中最高, 其它脏器之间 HV 带毒量没有显著性差异 ( $\chi^2=8.79$ ,  $P=0.088$ )。这些结果说明: 褐家鼠肺脏是 HV 侵犯与贮存的主要靶器官, HV 基因在该器官中可能更易发生变异。这对进一步了解 HV 在宿主体内的贮存规律、传播及其在流行病学上的意义将有所裨益。

**关键词 :** 汉坦病毒; 褐家鼠; 实时定量 PCR ; RT-PCR

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1003-5125(2006)02-0136-06

收稿日期: 2005-07-27, 修回日期: 2005-09-06.

\* 基金项目: 北京市自然科学基金资助重点项目 (编号: 7021004, 06G0668); 国家自然科学基金重大项目 (编号: 30590374)

作者简介: 江佳富 (1972-), 男, 汉族, 安徽歙县籍, 博士, 研究方向为自然疫源性传染病流行病学

\*\* 通讯作者. Corresponding author. Tel: 010-66948535, E-mail: caowc@nic.bmi.ac.cn

汉坦病毒 (hantavirus, HV) 是以啮齿类动物为主要宿主、并引起人类肾综合征出血热 (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, HFRS) 和汉坦病毒肺综合征 (Hantavirus Pulmonary Syndrome, HPS) 的一类病原体。我国主要有两种型别 HV, 即汉滩型和汉城型, 其优势宿主分别为黑线姬鼠和褐家鼠。近些年我国鼠型 HFRS 疫情发展较为迅猛, 并逐渐向大中城市蔓延, 引起人们的广泛关注。其中褐家鼠对该型疫情的蔓延与传播起着关键性的影响, 其种群密度波动和带毒状况变化往往成为疫情发生的始动环节和中心环节。目前, 大多数研究已表明: HV 对啮齿类宿主不致病, 宿主可呈持续带毒状态。如 Child 等的研究指出: 褐家鼠种群中 HV 感染的存在对其存活率、性成熟率以及繁殖适合度均没有不利影响<sup>[1]</sup>。但其他研究者观察到宿主体重增加减缓, 一些组织发生病理改变, 并可在多种组织中贮存<sup>[2, 3]</sup>。国内、外许多学者运用比较病理学研究法、原位杂交法等对 HV 感染实验大、小白鼠和野外黑线姬鼠不同脏器病理变化和病毒分布差异分别作了一定的研究, 揭示了 HV 病毒在宿主体内分布和长期持续感染的一些规律, 取得了一定的成果<sup>[2-6]</sup>。但从病毒感染数量方面来看, 这些研究大多是从主观上定性地判定病理改变的程度, 根据阳性信号强弱和抗原阳性细胞的多少来判定宿主脏器中 HV 带毒量的大致差异。而且对于不同脏器中 HV 检出率和带毒量差异, 也有些不一致的结论。另一方面, 除了不同地理来源、不同宿主种、同种宿主不同种群来源的 HV 呈现基因多样性外, 国外在与 HPS 相关的汉坦病毒重要宿主—鹿鼠 *Peromyscus maniculatus* 体内也已经观察到: 同一个体不同组织中得到的 HV 基因存在较多变异<sup>[7]</sup>。但此外的其他 HV 宿主不同脏器 HV 感染的相关报道不多。在我国也是一般针对宿主肺组织进行汉坦病毒基因检测和研究<sup>[8]</sup>, 有关宿主非肺脏器中的 HV 基因检测也鲜有报道。这可能与宿主非肺组织脏器中的 HV 感染量较低、目前常用的 RT-PCR 法对于检测宿主肺之外的脏器中的 HV 感染检出率较低有关。另外, 国内对于包括褐家鼠在内 HV 的重要宿主脏器中的病毒的定量检测也未见报道。有鉴于此, 本研究在对野外采集的褐家鼠不同脏器中 HV-M 基因进行定性检测分析的同时, 采用实时定量 PCR 法, 检测比较 HV 在褐家鼠不同脏器中带毒

数量的相对差异, 从而为今后进一步研究 HV 在宿主中的持续感染及其在 HFRS 流行方面的作用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源与选取

从 2002 年至 2004 年间在北京城区、近郊和远郊 5 个区县采集的近 900 只褐家鼠个体标本中, 先用 RT-PCR 法检测其肺组织中 HV-RNA M 片段, 选取 HV 呈阳性的褐家鼠个体, 再对该个体肺、心、肝、脾和肾脏 5 种脏器重新提取总 RNA。共包括 20 只个体, 85 份脏器。

### 1.2 各脏器中总 RNA 的提取

采用 TRIZOL<sup>®</sup> 一步法提取标本肺组织总 RNA。Trizol 试剂由美国 Invitrogen 公司提供。先取液氮中冻存的脏器组织标本, 用生理盐水洗涤去除血水, 用眼科手术镊、剪剪取 3 mm<sup>3</sup> (约 50 mg) 置预先分装有 500 μL Trizol 试剂的组织研磨器中, 电子天平称重、记录数据后, 反复研磨, 其余步骤按 Trizol 试剂说明书操作。

### 1.3 HV 检测与 M 基因片段变异分析

采用巢式 RT-PCR 法。上述提取的总 RNA 采用特异引物进行逆转录获得 cDNA, 一式两份分装备检。一份用于巢式 PCR 扩增, 一份用于实时定量 PCR 扩增。逆转录引物、巢式 PCR 引物和扩增条件参考王世文等文献<sup>[8]</sup>, PCR 扩增均在 PE2700 仪上进行, 产物检测采用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 然后在凝胶成像系统 (法国 SIM 公司) 上进行观察、照相。对上述阳性产物标本重复扩增后送上海博亚生物工程有限公司用 ABI 373 自动测序仪测序, 获得除引物外的 HV M 基因 1958-2313 nt 位置共 356bp 片段序列, 然后利用 DNASTAR 软件包中 MegAlign 软件, 参考其他一些相关毒株对应位置的序列, 比较不同个体肺组织来源 HV-M 片段变异以及同一个体不同脏器中该片段基因和氨基酸的变异特征。

### 1.4 不同脏器中 HV 定量分布差异检测

1.4.1 引物设计 采用美国 ABI 公司 Primer Express<sup>™</sup> 软件, 针对汉城型 Z37 毒株 M 片段全序列相对保守区段设计引物, 按照实时 PCR 引物设计原则, 并利用美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 站点 BLAST 工具软件和 GenBank 中注册的 HV 核苷酸序列进行比对后, 从中选取了 4 对, 然后通过常

规 PCR 预先进行敏感性、特异性检验和 SYBR Green 定量 PCR 预备试验, 筛选出一对, 其引物序列为: 上游 DMF: gccacagctgcacttttgatc, 下游 DMR: ccgtagaatggctttgaatcg, 扩增目的片段长 144bp, 扩增区域对应 Z37 毒株 M 片段 1487bp-1630bp 位置。所用引物均由上海博亚生物工程公司合成。

1.4.2 标准模板制备: 选择经 RT-PCR 检测 HV-M 片段呈阳性的标本模板, 采用上述 DMR 和 DMF 引物, 在 PE2700 PCR 仪上扩增得到 144 bp 目的产物, 用 3% 琼脂糖凝胶电泳分离割胶, 使用博大泰克公司提供的 DNA 片段玻璃奶回收试剂盒进行纯化(按说明书操作)。得到的产物稀释后在紫外分光光度计上检测核酸质量。预试验时使用从原液至  $10^{10}$  倍梯度稀释该产物作为标准曲线扩增的模板, 优化条件得到最佳扩增效率, 之后每次定量试验以此  $10^1 \sim 10^7$  7 个稀释梯度模板建立标准曲线, 并以  $10^7 \sim 10^1$  单位作为这些标准模板的相对浓度值。

1.4.3 SYBRGreen 实时定量 PCR 扩增: SYBR<sup>®</sup> Green 试剂盒由美国 ABI 公司提供, 参照蔡刚等文献<sup>[9]</sup>优化实验条件。其反应体系为: 10 倍 SYBR Green PCR 缓冲液 2.5  $\mu$ L, AmpErase UNG( uracil-N-glycosylase) 酶 0.25 U, AmpliTaq 金牌酶 0.75 U, dUTP 2 mmol/L 和其他 4 种 dNTPs 各 1 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, 模板为 3  $\mu$ L cDNA, 补水至总体积 25  $\mu$ L, 每份样品设 2 复孔, 同时设置无模板阴性对照。扩增条件为 94 15 s, 53 30 s, 72 30 s, 72 延伸 10 min, 共 38 个循环。同时设定 60 ~ 95 范围内的熔解曲线程序进行特异性分析。扩增仪为美国 ABI 公司生产的 ABI 7900 型定量扩增仪。

1.4.4 定量检测结果数据统计分析: 扩增过程实时监测及荧光信号检查、数据的储存和分析均由 ABI 7900 扩增仪 SDS2.0 软件完成。然后分析各样品扩增结果, 根据荧光本底以及阴性对照调整基线值 (baseline), 结合熔解曲线分析判定 HV 阴阳性, 根据标准曲线, 自动计算未知样品与标准模板之间的相对浓度, 输出数据至 EXCEL 表格, 考虑每一未知样品在总 RNA 提取时剪取脏器的重量差异因素, 统一换算到 50 mg 脏器中 HV 的相对含量, 再以肺脏为 1 基准单位计, 其他脏器与之相除得到相

对同一个体肺脏的病毒差异倍数。统计学分析时采用多个独立样本非参数检验比较不同脏器之间 HV 带毒量的差异, 不同脏器中 HV 阳性检出率的差异采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 不同脏器中 HV-M 基因片段检测与变异分析

通过 RT-PCR 检测, 从 20 只褐家鼠个体 85 份脏器样品中, 扩增到 29 份阳性标本, 包括 18 份肺脏, 11 份其它脏器, 其他脏器中 HV 阳性率为 16.9% (11/65), 仅从 4 只褐家鼠个体肺组织以外的脏器中扩增到 HV-M 片段, 从 2 只个体 (03111107 和 03042203 号) 3 种以上不同脏器中扩增得到 HV-M 片段序列。参考 GenBank 中已注册的 HV 株该区域基因序列, 经比较后发现: 不同个体肺组织来源的 HV-M 片段变异较多, 且其中 A→G 碱基变异类型占 1/3 强。同一个体不同脏器中 M 片段差异不大, 除 03042203 号褐家鼠外的其他个体不同脏器中扩增到的 HV-M 基因片段未见差异, 而 03042203 标本其他脏器与肺脏来源的 HV-M 片段相比, 在扩增子序列的 260bp 和 275bp 位点, 也即在对应 M 基因全序列 2218bp 和 2243bp 位置(以 SEOV 型 Z37 毒株为准) 各有一碱基变异, 肺脏中为变异, 且均为 A→G 变异, 并分别导致了该两位置氨基酸差异, 前者由精氨酸 (R) 变异为甘氨酸 (GLY), 后者由组氨酸 (His) 变异为精氨酸。

### 2.2 引物 DMF 和 DMR 普通 PCR 法与 SYBR Green 法敏感性比较

利用相同的 DMR 和 DMF 引物、同一标准品不同稀释度作为模板进行常规 PCR 扩增和 SYBR Green 定量 PCR 扩增。常规 PCR 在  $10^5$  倍稀释液做为模板仍可扩出目的带, 但大于  $10^5$  倍稀释作模板未能扩出目的带; SYBR Green 定量 PCR 以  $10^7$  倍稀释标准模板可扩出。说明利用该对引物的两种检测方法敏感性相差约 100 倍。原液作为模板扩增效率较低,  $10^8$  倍稀释模板后的扩增 ct 值低于阴性对照, 荧光值低, 并经熔解曲线分析, 为阴性。

### 2.3 定量 PCR 扩增效果与分析

每次试验以相同  $10 \sim 10^7$  倍梯度稀释的标准模板进行定量扩增, 获取标准曲线。标准模板、样品以及阴性对照扩增荧光曲线见图 1。

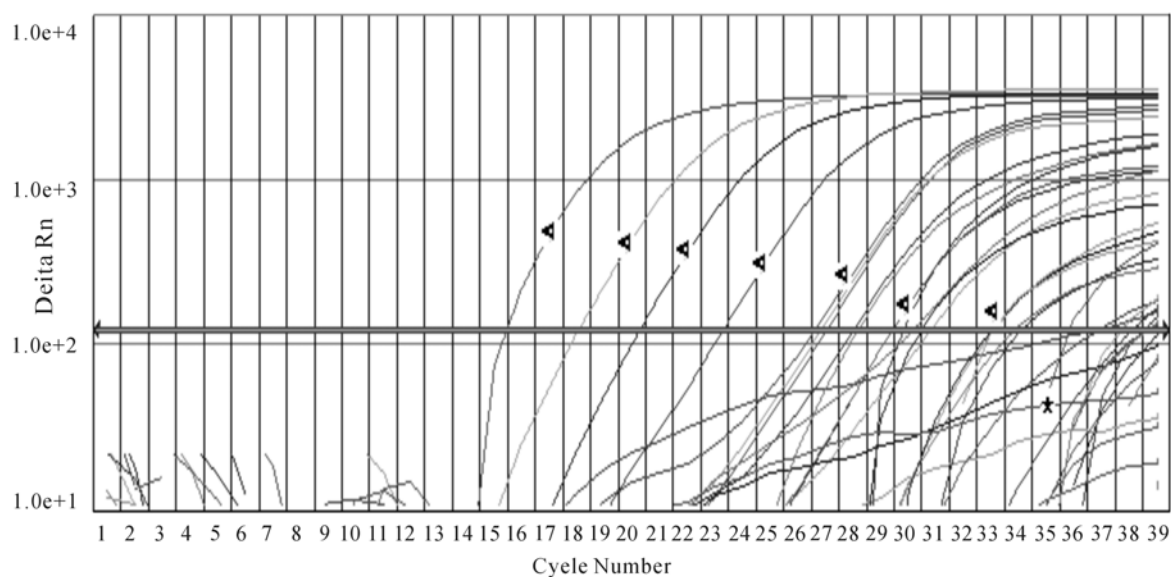


图 1 不同梯度稀释标准品和部分样品定量检测扩增荧光曲线

Fig.1 Amplification curve of hantavirus by real-time PCR

▲: Standard template cDNA of different dilution (from left to right are 10 to  $10^7$  folds). For each sample, the normalized fluorescence signal ( $\Delta Rn$ ) is plotted against the PCR cycle number.

经熔解曲线分析后,选择部分终点荧光值较高、熔解曲线为单峰的扩增产物进行凝胶电泳特异性检测复核,结果表明:熔解曲线  $T_m$  值为 77.5~78.4 之间的扩增产物电泳均有目的带,标准模板的熔解曲线均为单峰型, $T_m$  值为  $77.6 \pm 0.1$ 。阳性未知样品扩增产物熔解曲线单峰  $T_m$  值略高于标准模板的与标准模板  $T_m$  值,为  $78.2 \pm 0.2$ 。 $T_m$  值在 77.5~78.4 范围外以及有一个以上熔解峰的产物均为引物二聚体和少数非特异扩增。据此可准确判定实时定量 PCR 的阴阳性结果。

通过软件分析得到每次试验标准曲线,结果表明:标准品 cDNA 的相对浓度与扩增循环阈值 (Ct) 的相关系数在 0.994~0.999 之间,斜率在 -2.86~-3.2 之间,截距在 27-32 (Ct) 之间。由此可以得到两者的回归线性方程,据此得到未知样品相对浓度。

#### 2.4 不同脏器中 HV-cDNA 定量相对差异

荧光定量 PCR 共检测同样的 20 只鼠个体 85 份脏器,结果显示:有阳性信号脏器 51 个,阳性率 60.0% (51/85),相比于 M 片段 RT-PCR 法的阳性检出率 (29/85) 高。HV-cDNA 在 20 只褐家鼠脏器检出率之间的差异具有显著统计学意义 ( $\chi^2=16.10$ ,  $P=0.003$ )。以肺脏的阳性率最高,其次为肝脏、肾脏和心脏,脾脏的阳性率最低,为 17.65% (表 1)。

表 1 不同脏器中 HV 定量 PCR 检测阳性率

Table 1 Summary of HV QRT-PCR detection in different organs

Organs	No. examined	No. positive	Positive (%)
Lung	20	20	100.00
Liver	17	12	70.59
Kinney	14	8	57.14
Heart	17	8	47.06
Spleen	17	3	17.65
Total	85	51	60.00

$$\chi^2=16.103, P=0.003$$

HV 在不同个体脏器之间分布量梯度变化没有明显一致性,但除 3111106 鼠肝脏 HV-cDNA 2.97 倍于肺脏外,其他个体肺脏中 HV 带毒量均高于本身个体的其他脏器的。20 只个体其他不同脏器中 HV 带毒量相对于肺脏的平均倍数在 0.0613~0.517 之间,但同种脏器不同个体之间的 HV 带毒量的差异和离散程度较大,不服从正态分布。非肺组织脏器中, HV-cDNA 分布数量大小顺序因不同个体而有差异。采用多个独立样本非参数检验衡量不同脏器之间 HV 带毒量的差异,结果表明:5 种不同脏器中间 HV 带毒量差异有统计学意义 ( $\chi^2=25.76$ ,  $P<0.001$ ),但除肺脏外,其他脏器 HV 带毒量差异没有统计学意义 ( $\chi^2=8.79$ ,  $P=0.088$ )。中位数分析结果也表明:肺脏中 HV 相对含量高于其他脏器,而其他脏器之间 HV 带毒量比较接近 (表 2)。

表 2 20 只褐家鼠不同脏器中 HV 带毒量检测结果  
Table 2 Summary of HV-cDNA quantities from organs of different *R. norvegicus* in Beijing

Organs	No. positive	(Median)	Quartiles	Minimum	Maximum
Lung	20	1.55E+00	6.91E+01	1.93E-04	4.36E+02
Liver <sup>a</sup>	12	5.13E-02	3.38E-01	1.78E-05	2.97E+00
Kidney <sup>a</sup>	8	6.47E-02	2.04E-01	1.25E-05	3.69E-01
Spleen <sup>a</sup>	3	8.54E-02	7.33E-02	1.26E-02	8.59E-02
Heart <sup>a</sup>	8	1.39E-01	7.57E-01	7.18E-05	2.50E+00

( $\chi^2=25.76$ ,  $P<0.001$ )

a:virus-loads multiple relative to those in the lung of each individual.

### 3 讨论

本研究同时从定性和定量研究角度, 针对 HV-RNA M 基因片段, 运用实时定量 PCR 和巢式 RT-PCR 技术, 对野外自然感染褐家鼠一些组织中的 HV 病毒作了研究, 结果表明: 不同褐家鼠个体肺脏来源 HV-M 基因片段, 存在一定程度的变异, 且 A→G 变异频率较高。同一个体不同脏器之间 HV 变异方面, 发现 03042203 号鼠个体肺脏与其他脏器来源的 HV-对应 M 片段 2218bp 和 2243bp 位置各有一碱基变异, 且均为 A→G 变异, 并分别导致了该两位置氨基酸差异, 前者由精氨酸 (R) 变异为甘氨酸 (GLY), 后者由组氨酸 (His) 变异为精氨酸。这与美国 Feuer 等研究结果有所异同, 他发现 *Sin Nombre* (SNV) 类 HV 基因在鹿鼠 *Peromyscus maniculatus* 体内不同组织之间差异较多, 而且观察到同一个体内病毒变异可随时间动态变化, 而且“A→G”变异较多<sup>[7]</sup>。本研究显示褐家鼠个体间与个体内脏器 HV-M 基因该片段的变异有类似规律, 但变幅不多。这可能是由于 SNV 本身就比 SEOV 型病毒基因更容易产生变异有关。已有报道 HV 基因中的这类碱基变异与细胞 RNA 剪辑酶——双链 RNA 腺苷 (dsRAD) 有关, 而且该酶活性具有器官水平的特异性, 与病毒对宿主的免疫逃逸有关<sup>[10]</sup>。也有报道汉滩型标准株 76-118 的 M 基因 2401 位点 A→G 变异所引起的氨基酸改变 (鸟氨酸→甘氨酸) 可以引起病毒毒力的减弱, 并指出这些区域可能为病毒与中和性抗体结合的位点, 是病毒的进化策略之一<sup>[11]</sup>。所以很可能由于肺脏是 HV 对宿主主要的靶器官, 病毒的进攻和宿主免疫系统两者互相作用, 从而更容易使病毒发生变异。

另一方面, 除肺脏组织外, 普通 PCR 对于其他脏器中 HV 阳性检出率较低, 参考目前有关从其它脏器检测 HV 感染的报道也较少, 说明普通 PCR

对于检测宿主其他脏器中低拷贝 HV 感染敏感性还不够。本研究建立的 SEOV 病毒 SYBR Green 法对于检测低拷贝感染的其他脏器中 HV 检出率高于常规 RT-PCR。定量检测的结果表明: 带毒量以肺脏中最高, 并有统计学差异, 但除肺脏外其他脏器中 HV 带毒量差异无统计学意义。各脏器中的 HV 阳性检出率差异具有统计学意义, 也以肺脏的阳性率最高, 其次为肝脏, 脾脏的阳性率最低。从这一侧面也进一步说明肺脏是 HV 的主要侵染和复制靶器官, 但是否也揭示野外褐家鼠脾脏的免疫和清除病毒的能力较强? 这些结果与国内、外相关研究结果有所异同。如夏国庆等运用原位杂交技术检测汉滩型 Chen 株病毒感染的大鼠, 发现病毒 RNA 在大鼠肝脏中的阳性率最高, 其次为肺脏和心脏, 脾脏的阳性率最低, 并以肝、肺脏中阳性信号最强<sup>[3]</sup>。张云等用 IFAT 检测 Chen 株在黑线姬鼠脏器中分布, 发现抗原阳性率最高为肺, 其次为肾、肝、和脾。不同脏器病毒感染后有一个自然组织损伤和恢复的过程, 但以肺损害和恢复正常所需时间最长<sup>[4]</sup>。这两者揭示: 同样是 Chen 株病毒, 但动物模型不同, 病毒分布也有差异。国外 Ami 等通过检测野外及试验感染大鼠体内 HV 抗原的分布, 发现抗体滴度高的个体肺、肝、胰、脾中能检测到抗原, 抗体水平低的未能查到 HV 抗原。用此相同病毒感染 3 周大鼠, 结果同野外观察的, 但在 9 周后脏器中抗原减少, 并局限分布到肺和胰腺。但接种的乳鼠脑和肾实质细胞中抗原持续时间则更长<sup>[6]</sup>。Botten 等的实验则表明: 与急性感染不同, SNV 型 HV 持续感染鹿鼠则主要局限分布于心脏、肺脏以及褐色脂肪组织<sup>[12]</sup>。对于用 SEOV 感染大白鼠的研究方面, Compton 等用汉城型 80-39 株接种不同日龄大白鼠, 发现 2 日龄有临床症状, 6 日龄组织感染高于 10、20 日龄鼠。接种 3 周后阳性细胞开始下降, 阳性检出率肺中的略高, 其他相差不大, 肺中阳性细胞数最强, 在肝脏中一直稳定<sup>[2]</sup>。Kariwa 报道在 SEOV 在幼鼠中可持续感染 6 个月, 而在成鼠体内少于 2 个月<sup>[13]</sup>。说明感染期长短还受免疫状态影响。通过以上结果比较, 总体可以看出, 病毒在脏器分布不仅与病毒类型、传代后的毒力有关, 还与宿主的类型和感染的阶段有关, 两者是一个较为复杂的相互作用过程。但肺脏是 HV 的主要侵染和复制靶器官, 这从本研究定性和定量两方面也均得到确证。这些规律对于进一步研究 HV 的遗传变异及其与宿主的相互作用关系和 HV 传播流行方面的意义应有所裨益。

## References

- [1] Child J E, Glass G E, Korch G W, *et al.* Effect of hantavirus infection on survival, growth and fertility in wild rat (*Rattus norvegicus*) populations of Baltimore, Maryland [J]. *J wildl Dis*, 1989, 25: 569-476.
- [2] Compton S R, Jacoby R O, Paturzo F X, *et al.* Persistent Seoul virus infection in Lewis rats (*Rattus norvegicus*) [J]. *Arch Virol*, 2004, 149: 1325-1339
- [3] Xia G Q, Liu Y F, Feng L, (夏国庆, 刘彦仿, 冯 蕾) *et al.* A study of hantavirus M RNA distribution in latently infected laboratory rats [J]. *Chin J Naut Med (中华航海医学杂志)*, 1997, 4 (4): 212-215.
- [4] Zhang Y, Dou R, Wang Y, (张 云, 龚蕊, 王 慧) *et al.* A study on distribution of hantavirus and organs pathological change in *Apodemus agrarius* [J]. *Jiangsu Med (江苏医药)*, 1989, 15 (9): 478-480.
- [5] Ma H B, Sugiyamak, Shinohara K, (马洪波, 杉山和良, 筱原克明) *et al.* Distribution of hantavirus and observation on serum antibody and biochemical parameters in experimental mice after inocation of hantavirus [J]. *Chin J Pub Med (中国公共卫生学报)*, 1996, 15(1): 7-8.
- [6] Ami Y. Distribution of hantavirus antigen of infected field and lab rats. Abstract of the 3<sup>rd</sup> Asia-Pacific Congress of Medical Virology [C]. 1994, 48.
- [7] Feuer R, Boone J D, Netski D, *et al.* Temporal and Spatial Analysis of *Sin Nombre* Virus Quasispecies in Naturally Infected Rodents [J]. *J Virol*, 1999, 73 (11): 9544-9554.
- [8] Wang S W, Hang C S, Wang H, (王世文, 杭长寿, 王 华) *et al.* Genotype and clade distribution of hantavirus in China [J]. *Chin J Virol (病毒学报)*, 2002, 18 (3): 211-216.
- [9] Cai G, Li W J, Shen Q, (蔡 刚, 李闻捷, 沈 茜). Optimization and problem of application of real time PCR technical [J]. *Foreign Medical science section of clinical bio-chemistry and laboratory (国外医学临床生物化学与检验学分册)*, 2003, 24 (6): 330-332.
- [10] Chizhikov V E, Spiropoulou C F, Morzunov S P, *et al.* Complete genetic characterization and analysis of isolation of *Sin Nombre* virus [J]. *J Virol*, 1995, 69: 8132-8136.
- [11] Isegawa Y, Tanishita O, Ueda S, Yamanishi K. Association of serine in position 1124 of Hantaan virus glycoprotein with virulence in mice [J]. *J Gen Virol*. 1994, 75 (11): 3273-3278
- [12] Botten J, Mirowsky K, Kusewitt D, *et al.* Persistent Sin Nombre Virus Infection in the Deer Mouse (*Peromyscus maniculatus*) Model: Sites of Replication and Strand-Specific Expression [J]. *J Virol*, 2003, 77 (2): 1540-1550
- [13] Kariwa H, Kimura M, Yoshizumi S, *et al.* Modes of Seoul virus infections: persistency in newborn rats and transiency in adult rats [J]. *Arch Virol*, 1996, 141: 2327-2338.