

文章编号:1002-2694(2012)01-0070-04

I型牛疱疹病毒潜伏感染机制研究进展*

霍志云¹,胡嘉欣¹,童钦²,高维凡¹,武华²,王炜^{1,2}

中图分类号:S852.65 文献标识码:A

I型牛疱疹病毒(BoHV-1)主要引起牛传染性鼻气管炎(infectious bovine rhinotracheitis, IBR)、母牛传染性脓疱性外阴阴道炎(infectious pustular vulvovaginitis, IPV)、公牛传染性脓疱性龟头包皮炎(infectious pustular balanoposthitis, IPB)。病毒形成潜伏感染是病毒的生存策略,尽管机体对病毒感染能形成显著的免疫反应,病毒仍可在神经结内建立终生潜伏感染,当受到应激因素刺激后,潜伏感染的病毒可被激活并重新排出。近些年来,在分子水平对病毒的潜伏感染和再激活机制进行了一系列的研究,但因其机制复杂,确切的机制仍不完全明晰,鉴于I型牛疱疹病毒的广泛致病性和公共卫生意义,以及病毒对宿主造成潜伏感染和病毒与细胞相互作用的特殊形式,进一步从病毒的基因组结构、病毒潜伏感染过程及涉及的蛋白、病毒与机体的免疫应答等方面去探讨病毒的潜伏感染机制,有助于深入了解和认识病毒,从而寻找针对病毒的有效药物和控制方法。

1 BoHV-1 的基因组结构

疱疹病毒是一群较大的有囊膜的双链DNA病毒。I型牛疱疹病毒具有疱疹病毒科成员所共用的形态特征。成熟病毒粒子的直径约为150~220 nm,基因组全长135.3 kb,包括2个独特的序列,长序列(Unique long, UL)和短序列(Unique short, US)。短序列的两端是2个重复的反向的序列,内部重复序列(internal repeat, IR)、末端重复序列(terminal repeat, TR)。UL和US中有编码BoHV-1的10个糖蛋白的基因。两个即时早期转录单位(IETu-1和IETu-2)的启动子分布在IR和TR中。持续性感染过程中,BoHV-1活跃的转录区域将会产生潜伏感染相关的转录产物(latency-related transcript, LRT)。细胞周期蛋白A(cyclinA)对细胞凋亡过程起关键作用,而处于潜伏感染状态的

BoHV-1能阻止cyclinA的表达,从而提高了病毒感染的神经细胞的存活能力,进而有利于BoHV-1形成潜伏感染^[1]。限制性内切酶的方法能将BoHV-1分为BoHV-1.1和BoHV-1.2,两者具有不同的趋向性,这可能是由于两者糖蛋白C(gC)的不同造成的。gC是病毒非必需的I类跨膜糖蛋白,属于免疫球蛋白家族,和其它疱疹病毒的gC相似,拥有强亲水性N末端区域,在病毒表面形成棘突,gC还能结合宿主细胞上的硫酸肝素,这种结合对病毒吸附宿主细胞起了重要作用,可能决定病毒的趋向性。

2 BoHV-1 潜伏感染过程及机理

2.1 BoHV-1 侵入及趋向性 自然条件下,病毒可通过空气、媒介物以及牛的直接接触而传播,主要为飞沫、交配(精液中含有病毒)和接触传播。本病的自然宿主为牛,病毒主要侵入宿主的上呼吸道或生殖道粘膜。BoHV-1各亚型趋向性不同可能和糖蛋白c(gc)有关,实验表明I型单纯疱疹病毒(human herpes simplex virus 1, HSV-1)和II型单纯疱疹病毒(human herpes simplex virus II, HSV-2)中gc的不同,影响着病毒的结合能力,造成在人体细胞内趋向性的不同^[2]。因此有人推测BoHV-1.1和1.2中gc的不同,造成不同毒株的细胞趋向性发生改变,从而引起IPV向IBR的转变。然而Lennert,S等人的最近发现,BoHV-1各亚型侵入后,24h内对呼吸道粘膜侵入的比较深,但使生殖道粘膜形成的蚀斑比较大,这一发现使不同亚型具有不同趋向性这一观点面临挑战^[3]。对于有囊膜的病毒来说,病毒的囊膜和细胞膜之间的融合作用是病毒入侵的关键,而胆固醇在此过程中作用关键,Zhu,L等人研究了胆固醇在BoHV-1感染MDBK细胞时所起的作用,结果发现,细胞膜上的胆固醇与病毒侵入MDBK细胞有关,而病毒囊膜上的胆固醇对于病毒的感染是必需的^[4]。

2.2 病毒复制 疱疹病毒在易感的单层细胞中增殖,使细胞出现局灶性肿胀和圆缩,随后由中心部位开始脱落,逐渐蔓延到整个单层细胞。造成这种现象的原因是病毒复制时引起了细胞坏死和细胞凋

* 2010农业公益性行业科研专项(201003060)

通讯作者:王炜,Email:ww-wet@139.com

作者单位:1.沈阳农业大学,沈阳 110161;

2.中国农业科学院特产研究所

亡。BoHV-1 感染细胞后,通过间层蛋白 vhs 导致部分细胞蛋白合成过程的关闭^[5-6]。实验证实,BoHV-1 感染过程能激活在细胞凋亡过程中起关键作用的调节蛋白 caspase3^[7]。BICP0 可能通过诱导 caspase3 裂解,间接延迟了细胞程序性死亡^[8]。BoHV-1 侵入细胞不但能使细胞产生细胞病变(CPE),而且能够通过抑制上皮细胞向受损部位的迁移来降低上皮细胞的修复作用。试验发现,Bohv-1 感染 MDBK 细胞之后,能激活(Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)磷脂酰肌醇(-3)激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和细胞分裂素活化蛋白激酶信号通路,PI3K 在病毒复制中起重要的作用^[9]。

2.3 病毒的扩散和传播 病毒在感染部位大量增殖,新产生的病毒在鼻粘膜内有很高的分泌滴度,造成病毒在易感群体中的快速传播,病毒体内的传播方式有局部扩散、病毒血症引起的全身性感染及神经侵染。感染粘膜内的 BoHV-1 的传播方式有两种,一种是病毒释放到细胞外介质中再和靶细胞受体相互作用;另外一种途径是病毒粒子直接从感染细胞扩散到邻近的未感染细胞(ctcs),后者在细胞外介质中存在中和抗体的情况下,也可以顺利进行^[10]。Kalthoff D 等研究发现 gE 和间层蛋白 VP22 对于 BoHV-1 的 ctcs 起关键作用^[11]。BoHV-1 在宿主体内可以通过病毒血症传播到其它组织和器官中,引起母牛流产、犊牛全身性感染等,BoHV-1 造成全身性感染的机制尚不明确。研究显示外周血白细胞可感染 BoHV-1 并限制病毒的复制,Miller 和 Whetstone 试验中从血清中分离到了病毒,但是结果有待商榷,因为试验过程中,他们采用静脉注射的方式来代替病毒的自然感染^[12-15]。病毒在粘膜上皮复制期间,通过粘膜内的神经末端以两种途径(嗅觉神经和三叉神经)将病毒扩散至中枢神经系统(CNS),BoHV-1 更倾向于利用三叉神经这一途径进行传播,并在三叉神经建立潜伏感染。偶尔从患急性脑膜炎成年动物的 CNS 中分离出 BoHV-1^[16],这可能是由于宿主对 CNS 感染的敏感性不同造成的,并不能说明 BoHV-1 的变异导致神经侵染性发生了改变。例如 STAT1 是干扰素(IFN) α 和 β 抗病毒途径中十分关键的调节蛋白,缺乏 STAT1 的幼儿 CNS 更易感染疱疹病毒^[17-18]。因此我们可以推测基因敏感性的不同是 BoHV-1 引起个别宿主出现神经症状的原因。

3 机体对病毒的免疫应答及病毒的逃逸

3.1 机体对病毒的免疫应答 BoHV-1 首次感染后,机体会产生非特异性炎症反应和细胞免疫反应,例如补体的激活、IFN 的释放等。非特异性免疫反应对于调节特异性免疫反应起着十分重要的作用^[19]。特异性细胞免疫在感染后 5 d 产生,7~10 d 达到高峰,辅助性 T 细胞(Th)通过分泌 IFN- γ 和白细胞介素 2(IL-2)来激活巨噬细胞和自然杀伤(NK)细胞并通过促进毒性 T 细胞的增殖来调节 BoHV-1 感染的细胞的裂解。特异性体液免疫反应在感染后 10 d 产生,虽然抗体对于首次感染的恢复意义不大,但是它通过中和作用和调节细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)来清除 BoHV-1;另外抗体对防止次级感染和限制病毒的再次活化起着重要作用。母源抗体对新生犊牛可以产生有效的保护作用。

3.2 潜伏病毒的逃逸 疱疹病毒几乎能在所有的动物中引起潜伏感染,这可能归因于病毒逃避免疫应答的结果。BoHV-1 经过进化,发展出不同的机制来逃避宿主的先天性免疫反应和获得性免疫反应^[20]。首先,疱疹病毒能建立潜伏感染状态是因为病毒在细胞内不发生增殖,不杀死细胞,因而可在细胞内无限期存在;此外,即使病毒在潜伏期表达部分蛋白,也难以被细胞所识别,因此,潜伏有效地保护了病毒免受免疫系统的清除作用。HSV 可减少类糖蛋白的表达,从而逃避 CTL 的识别;HSV 也可解除细胞毒性,当自然杀伤细胞(NK)暴露于某些感染的靶细胞时,会被“解除武装”从而失去杀细胞功能,在介导的杀伤作用中也出现类似的结果,这些现象都发生在病毒复制的早期,当病毒最初感染时便提供一个重要的逃逸机制。BoHV-1 初次感染后,牛群可建立有效的免疫机制,大多数情况下恢复健康并阻止病毒的排出,但是会造成病毒终生潜伏感染,免疫逃逸机制在 BoHV-1 建立潜伏感染方面起了十分重要的作用。干扰素调节因子 3(IFN3)是一种调节蛋白,参与 I 型 IFN 的转录,BICPO 可以通过促进 IRF3 的分解来抑制 I 型 IFN 的转录^[21];Bohv-1 的另外一种逃逸机制是溶解先天免疫反应因子。其它疱疹病毒如猪伪狂犬病病毒(Pseudorabies virus, PRV)、HSV-1 中也存在这种逃逸机制,这种逃逸机制受到糖蛋白 C(gC)和补体成分 C3 相互作用的影响;BoHV-1 还可以通过下调主要组织相容性复合物 I(MHC I)抗原递呈过程^[22],降低 CTL 对抗原的识别和清除作用。这种下调作用的机制是 UL49.5 首先阻断抗原递呈细

胞,然后和 UL41 编码的 vhs 蛋白一同参与这种抑制作用^[23]。这种机制并不能完全阻止 CTL 对抗原的识别,并且只有疱疹病毒科水痘病毒属病毒的 UL49.5 才能发挥这种抑制作用^[24]。

4 潜伏感染再激活

病毒初次感染后,在上皮细胞的粘膜内复制,随后在外周神经系统的感觉神经元内建立终生的潜伏感染。BoHV-1 穿透分布在感染上皮细胞内的感觉神经末端^[25],经轴索移行到颅神经或脊髓神经的神经节内,在神经节的神经元细胞内以 DNA 的形式持续存在,有些转录为 mRNA。潜伏感染相关(latency-related, LR)基因是 BoHV-1 潜伏感染再活化所必需的,它能够在建立潜伏感染时使神经细胞免于死亡,通过使潜伏感染的神经保持活性来抑制细胞死亡,对于维持潜伏感染是十分必要的。在潜伏感染的神经元内,LRT 表达后,就会抑制病毒的裂解和编程性细胞死亡过程^[26]。潜伏感染中,用 Western blottint 检测出 LRT 中 ORF2 的 N 末端表达的蛋白量显著增加^[27-28]。最近发现另外一种命名为 ORF2 的肽在潜伏感染的牛的三叉神经节中大量表达^[29]。目前尚未发现这些 ORF 对 BoHV-1 潜伏感染激活周期所起的作用。Tareq. J 等人近期的研究发现 BoHV-1 LR 基因内小的非编码 RNAs(sncRNAs)与建立和维持病毒的持续性感染有关,BoHV-1 编码表达至少 10 种 miRNA,至少 3 种 miRNA 对于病毒的潜伏感染起关键的调节作用^[30]。目前 LR 基因在 BoHV-1 重新活化和再度排出方面所起的作用尚未有报道。另外 BoHV-1/5 的重组病毒也能够在体内复制并建立潜伏感染^[31]。

通过对 HSV 潜伏感染和重新排出的研究,发现免疫系统对潜伏感染的排毒周期产生影响。HSV 潜伏感染的鼠模型中,CTL 产生的 IFN-γ 能够阻止感觉神经节中潜伏感染的病毒的重新排出^[32]。应激因素或免疫抑制剂处理后,潜伏的病毒的重新排出,传染其它未感染动物,通常不引起临床症状。病毒一旦在三叉神经节内重新活化,便开始新的复制周期。研究发现小剂量的地塞米松就能引起兔子神经内潜伏感染的病毒的重新排出,18 h 后就能检测出病毒的 DNA^[33]。

病毒侵入上皮粘膜后,开始复制,此时是否造成病毒的重新排出受到两个条件的制约,动物免疫状态和病毒表型。BoHV-1 的自然感染或疫苗免疫后所产生的初次免疫应答能控制潜伏感染的病毒的重新排出。通过连续免疫产生的免疫反应能够有效的

抑制病毒的重新排出^[34]。因此初次免疫后 2 月内的应激刺激并不能造成病毒的重新排出。子代病毒表型的不同能够影响应激刺激后病毒是否重新排出。实验证明 BoHV-1 gC-gE 缺失变异株能够建立潜伏感染但是受到应激条件刺激后不会重新排毒^[35]。Brum 等人经过进一步研究发现 gE 对于 BoHV-1 从三叉神经扩散到鼻、眼等部位起着十分关键的作用^[36]。LRT 缺失的变异的株感染牛后,表现出轻微的临床症状,并降低了病毒从眼、扁桃体和三叉神经节的排出。用地塞米松处理后 LRT 缺失变异株不会造成病毒的重新活化^[37]。

5 潜伏感染对机体的影响

虽然潜伏感染对于健康个体没有太大影响,但是可以引起多种细胞因子的改变,影响细胞的新陈代谢,并且潜伏感染的组织细胞局部可能存在不时地病毒低量复制。在这些因素的作用下,有可能导致细胞自身抗原的转化,产生自身细胞抗原免疫抗体,进而导致免疫损伤。如潜伏在血管壁内皮细胞中的病毒,由于免疫损伤等作用,致使血管壁受损硬化,研究发现其在动脉粥样硬化及系统性硬化症发病机制中起重要作用。受人巨细胞病毒(HCMV)感染后,细胞吞食能力明显减弱,并有 90% 多的细胞对化学趋化因子反应能力受到削弱^[37]。该种作用可能也是帮助病毒逃避免疫清除的机制之一。因此我们可以推测潜伏在三叉神经的 BoHV-1 也可能对动物机体产生上述影响。

6 总 结

牛疱疹病毒通过抑制 I 型 IFN 的转录、溶解先天免疫反应因子、下调 MHC I 抗原递呈等过程来逃避多种免疫应答,病毒 LRT 的表达,能抑制病毒的裂解和细胞凋亡,因此可以在机体内建立潜伏感染,在受到应激因素的刺激后,潜伏的病毒可再激活并向外不定期排毒,给病毒的根除带来了很大困难。因此对疱疹病毒潜伏感染机制的深入研究,有利于对疱疹病毒致病机理的了解,并为该病的治疗带来曙光。

参 考 文 献:

- [1] Schang LM, Hossain A, Jone C, et al. The latency-related gene of bovine herpesvirus21 encode a p product which inhibits cell cycle progression[J]. J Virol, 1996, 70(6): 3807-3814.
- [2] Herold BC, Gerber SI, Belval BJ, et al. Differences in the susceptibility of herpes simplex virus types1 and 2 to modified heparin compounds suggest serotype differences in viral entry[J]. J

- Virol,1996,70:3461-3469.
- [3]Steukers L, Vandekerckhove AP, Van den Broeck W. Comparative analysis of replication characteristics of BoHV-1 subtypes in bovine respiratory and genital mucosa explants: a phylogenetic enlightenment[J]. Vet Res,2011,42(1):33.
- [4]Zhu L,Ding X,Tao J. Critical role of cholesterol in bovine herpesvirus type 1 infection of MDBK cells[J]. Vet Microbiol,2010, 29;51-57.
- [5]Hinkley S, Ambagala AP, Jones CJ, et al. A vhs-like activity of bovine herpesvirus-1[J]. Arch Virol,2000,145:2027-2046.
- [6]Koppers-Lalic D, Rijsewijk FA, Verschuren SB, et al. The UL41-encoded virion host shutoff (vhs) protein and vhs-independent mechanisms are responsible for down-regulation of MHC class I molecules by bovine herpesvirus 1[J]. J Gen Virol, 2001,82: 2071-2081.
- [7]Lovato L, Inman M, Henderson G, et al. Infection of cattle with a bovine herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the latency-related gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency[J]. J Virol,2003,77:4848-4857.
- [8]Henderson G, Zhang Y, Inman M, et al. Infected cell protein 0 encoded by bovine herpesvirus 1 can activate caspase 3 when overexpressed in transfected cells[J]. J Gen Virol, 2004,85: 3511-3516.
- [9]Liqian Z, Xiuyan D, Xiaofang Z. Biphasic activation of PI3K/Akt and MAPK/Erk1/2 signaling pathways in bovine herpesvirus type 1 infection of MDBK cells[J]. Vet Res,2011,42:57.
- [10]Rebordosa X, Pinol J, Perez-Pons JA, et al. Glycoprotein E of bovine herpesvirus type 1 is involved in virus transmission by direct cell-to-cell spread[J]. Virus Res,1996,45:59-68.
- [11]Kalthoff D, Granzow H, Trapp S, et al. The UL49 gene product of BoHV-1: a major factor in efficient cell-to-cell spread[J]. J Gen Virol,2008,89(9):2269-2274.
- [12]Miller JM, Whetstone CA, Bello LJ, et al. Determination of ability of a thymidine kinase-negative deletion mutant of bovine herpesvirus-1 to cause abortion in cattle[J]. Am J Vet Res, 1991,52:1038-1043.
- [13]Miller JM, Whetstone CA, Van der Maaten MJ. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA[J]. Am J Vet Res,1991,52:458-461.
- [14]Whetstone CA, Miller JM. Two different strains of an alphaherpesvirus can establish latency in the same tissue of the host animal: evidence from bovine herpesvirus 1[J]. Arch Virol,1989, 107:27-34.
- [15]Whetstone CA, Miller JM, Seal BS, et al. Latency and reactivation of a thymidine kinase-negative bovine herpesvirus 1 deletion mutant[J]. Arch Virol,1992,122:207-214.
- [16]Roels S, Charlier G, Letellier C, et al. Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in anadult cow[J]. Vet Rec, 2000,146:586-588.
- [17]Chapgier A, Wynn RF, Jouanguy E, et al. Human complete Stat-1 deficiency is associated with defective type I and II IFN responses in vitro but immunity to some low virulence viruses in vivo[J]. J Immunol,2006,176:5078-5083.
- [18]Dupuis S, Jouanguy E, Al-Hajjar S, et al. Impaired response to interferon-alpha/beta and lethal viral disease in human STAT1 deficiency[J]. Nat Genet,2003,33:388-391.
- [19]Babiuk LA, van Drunen Littel-van den NHurk S, Tikoo SK. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection[J]. Vet Microbiol,1996,53:31-42.
- [20]Subramaniam S, Clayton LK, Aruna A. Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex[J]. Animal Health Research,2008,8(2):215-229.
- [21]Henderson G, Zhang Y, Jones C. The Bovine herpesvirus 1 gene encoding infected cell protein 0 (bICP0) can inhibit interferon-dependent transcription in the absence of other viral genes [J]. J Gen Virol,2005,86:2697-2702.
- [22]Koppers-Lalic D, Reits EA, Ressing ME J, et al. Varicelloviruses avoid T cell recognition by UL49.5-mediated inactivation of the transporter associated with antigen processing[J]. Proc Natl Acad Sci,2005,102:5144-5149.
- [23]Koppers-Lalic D, Rijsewijk FA, Verschuren SB, et al. The UL41-encoded virion host shutoff (vhs) protein and vhs-independent mechanisms are responsible for down-regulation of MHC class I molecules by bovine herpesvirus 1[J]. J Gen Virol, 2001,82:2071-2081.
- [24]Verweij MC, Lipinska AD, Koppers-Lalic D. The capacity of UL49.5 proteins to inhibit TAP is widely distributed among members of the genus Varicellovirus[J]. J Virol,2011,85(5): 2351-2363.
- [25]Enquist LW, Husak PJ, Banfield BW, et al. Infection and spread of alphaherpesviruses in the nervous system[J]. Adv Virus Res,1998,51:237-347.
- [26]Henderson G, Perng G, Nesburn AB, et al. The latency-related gene encoded by bovine herpesvirus 1 can suppress caspase 3 and caspase 9 cleavage during productive infection[J]. Neurovirol,2004,10:64-70.
- [27]Hossain A, Schang LM, Jones C. Identification of gene products encoded by the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 [J]. J Virol,1995,69:5345-5352.
- [28]Jiang Y, Hossain A, Winkler MT, et al. A protein encoded by the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 is expressed in trigeminal ganglionic neurons of latently infected cattle and interacts with cyclin-dependent kinase 2 during productive infection[J]. J Virol,1998,72:8133-8142.
- [29]Inman M, Zhou J, Webb H, et al. Identification of a novel bovine herpesvirus 1 transcript containing a small open reading frame that is expressed in trigeminal ganglia of latently infected cattle[J]. J Virol,2004,78:5438-5447.
- [30]Tareq J, Aspen W, Clinton J. Small Noncoding RNAs encoded within the bovine herpesvirus 1 latency-related gene can reduce steady-state levels of infected cell protein 0 (bICP0)[J]. J Virol,2010,84(13):6297-6307.
- [31]Maria P, Sonia A, Maria F. In vitro-generated interspecific recombinants between bovine herpesviruses 1 and 5 show attenuated replication characteristics and establish latency in the natural host[J]. BMC Vet Res,2011,7:19.
- [32]Liu T, Khanna KM, Chen X, et al. CD8(+) T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons[J]. J Exp Med,2000,191:1459-1466.

青霉病相关性的研究多集中在野生竹鼠不同组织部位分离获得马尔尼菲青霉及竹鼠与马尔尼菲青霉流行病学调查等方面。本研究选择银星竹鼠作为实验动物,从能分离出马尔尼菲青霉的常见感染部位(肺泡、腹腔和脾脏)分离获得原代巨噬细胞,从巨噬细胞对马尔尼菲青霉分生孢子吞噬作用出发,为进一步探讨竹鼠与马尔尼菲青霉及马尔尼菲青霉病的相互关系奠定初步基础。

由于竹鼠本身的生物学特性,原代巨噬细胞的分离获得往往存在众多不稳定因素,尤其是各种原因所致的肺出血、肺水肿等对所获得肺泡巨噬细胞的数量及活性影响较大,而在脾脏巨噬细胞分离的过程中,贴壁纯化的时间对获得较纯的巨噬细胞至关重要。在这3种分离方法中,腹腔巨噬细胞的分离较肺泡、脾脏巨噬细胞操作简单、稳定性好、获得细胞数量较多。透射电镜下观察3种来源的巨噬细胞对马尔尼菲青霉分生孢子均具有吞噬作用,并采用流式细胞技术检测三者均具有较高的吞噬率,统计学分析三者间吞噬率具有统计学差异,其中腹腔来源巨噬细胞对马尔尼菲青霉分生孢子的吞噬率最高。电镜下未发现吞噬后的马尔尼菲青霉分生孢子形态结构的改变,也未发现巨噬细胞在吞噬真菌孢子后重要细胞器数量及结构的变化。竹鼠感染马尔尼菲青霉后临床症状不典型及组织病理变化轻微,可能与巨噬细胞对马尔尼菲青霉免疫反应微弱或缺乏有关。因此竹鼠巨噬细胞在抗马尔尼菲青霉感染过程中是否具有免疫杀伤作用甚至可能是一种保护作用尚需进一步研究。

综上所述,本研究成功分离获得银星竹鼠肺泡、腹腔和脾脏来源巨噬细胞,这将为竹鼠生物学功能、细胞生理学的研究、病理模型的建立奠定基础。来源于银星竹鼠常见能分离出马尔尼菲青霉的组织部位的巨噬细胞虽具有较强的吞噬马尔尼菲青霉分生孢子能力,但电镜下未见巨噬细胞细胞器及被吞噬

的马尔尼菲青霉分生孢子形态结构明显改变,因此竹鼠巨噬细胞对马尔尼菲青霉分生孢子是否具有免疫杀伤作用尚待更进一步研究。

参考文献:

- [1] Vanittanakom N, Cooper CR, Fisher MC, et al. *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(1):95-110.
- [2] Liyan X, Changming L, Xianyi Z, et al. Fifteen cases of penicilliosis in Guangdong, China[J]. Mycopathologia, 2004, 158(2): 151-155.
- [3] 吴易, 李菊裳, 梁伶. 广西银星竹鼠与人马尔尼菲青霉病关系的研究[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2004, 18(4): 196-198.
- [4] 宋兴起, 杨福和, 邢秀梅, 等. 我国竹鼠资源种类、价值及人工驯养前景[J]. 特种经济动植物, 2009(2): 8-10.
- [5] Cao C, Liang L, Wang W, et al. Common reservoirs for *Penicillium marneffei* infection in humans and rodents. China [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(2): 209-214.
- [6] Li X, Yang Y, Zhang X, et al. Isolation of *Penicillium marneffei* From Soil and Wild Rodents in Guangdong, SE China[J]. Mycopathologia, 2011, 172(6): 447-451.
- [7] 朱宏, 崔进, 刘明, 等. 竹鼠马尔尼菲青霉菌感染的病理学研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2000, 34(6): 404-405.
- [8] Zhang X, Goncalves R. The Isolation and Characterization of Murine Macrophages[J]. Curr Protoc Immunol, 2008, 14(14): 1.
- [9] 邹丹, 全宏勋. 小鼠肺泡巨噬细胞的提取、纯化及活性检测[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(9): 1087-1088.
- [10] 张华, 曲震寰, 王莹, 等. 小鼠腹腔巨噬细胞的分离培养与吞噬功能测定[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 30(5): 9-10.
- [11] 吕峰, 李宗芳, 张澍, 等. 人脾脏巨噬细胞的分离与纯化[J]. 西安交通大学学报, 2004, 5(25): 513-516.
- [12] Timo LM, ten Hagen, Vianen WV, et al. Isolation and characterization of murine Kupffer cells and splenic Macrophages[J]. Journal of Immunological Methods, 1996, 193(1): 81-91.
- [13] Feng P, Xie Z, Sun J, et al. Molecular cloning, characterization and expression of PmRsr1, a Ras-related gene from yeast form of *Penicillium marneffei* [J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(7): 3533-3540.

收稿日期:2011-09-03;修回日期:2011-11-02

(上接第73页)

- [33] Rock D, Lokengard J, Lewis T, et al. Characterization of dexamethasoneinduced reactivation of latent bovine herpesvirus 1 [J]. J Virol, 1992, 66: 2484-2490.
- [34] Pastoret PP, Aguilar-Setien A, Burtonboy G, et al. Effect of repeated treatment with dexamethasone on the reexcretion pattern of infectious bovine rhinotracheitis virus and humoral immune response[J]. Vet Microbiol, 1979, 4: 149-159.
- [35] Bosch JC, De Jong MCM, Franken P, et al. An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gDsubunit vaccine

reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field[J]. Vaccine, 1998, 16: 265-271.

- [36] Brum MC, Coats C, Sangena RB. Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) anterograde neuronal transport from trigeminal ganglia to nose and eye requires glycoprotein E[J]. J Neurovirol, 2009, 15(2): 196-201.
- [37] Inman M, Lovato L, Doster A. A mutation in the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 disrupts the latency reactivation cycle in calves[J]. J Virol, 2002, 76: 6771-6779.

收稿日期:2011-05-09;修回日期:2011-08-21