

人工建立肝脏泡球蚴模型后小鼠的死亡规律和原因分析

王 岩¹, 苏争明¹, 陈 骞¹, 张 怀¹, 李 江¹, 代 平², 张示杰¹

摘要:目的 研究人工建立肝脏接种泡球蚴模型后小鼠的死亡规律及主要死亡原因,探讨造模术后导致死亡的主要并发症的风险因素及预防。**方法** 开腹直视肝脏穿刺法接种 50 只健康昆明小鼠,术后 15 d 内动态观察小鼠的生理变化并记录死亡时间与数量,着重分析其死亡原因及相关因素。**结果** 术后 15 d 共死亡 19 只,第 9 d 死亡 1 只,其余 18 只在术后 7 d 内死亡。术后死亡量于第 2 d 开始上升,第 4、5 d 达高峰后逐渐下降至第 7 d 死亡 1 只。**结论** 泡球蚴接种术后小鼠的主要死亡原因与手术方式、麻醉、感染、泡球蚴的抗原性、肝损伤等导致的并发症密切相关。有效预防此类并发症是提高造模生存率的关键。

关键词:泡球蚴;模型;死亡规律;原因分析

中图分类号:R383.3

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2018)03-0207-06

Death pattern and cause analysis in mice after establishment of the liver alveolar hydatid model

WANG Yan¹, SU Zheng-ming¹, CHEN Qian¹, ZHANG Huai¹,
LI Jiang¹, DAI Ping², ZHANG Shi-jie¹

(1. Department of Hepatobiliary, the First Affiliated Hospital, Medicine College, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital, Medicine College, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: We studied the death pattern and the main causes of death after artificial liver inoculation with alveolar hydatid model, and explored the risk factors and prevention of major complications resulting from death after modeling. The 50 healthy Kunming mice were inoculated with open-staring liver puncture and the physiological changes of the mice were observed dynamically within 15 days after operation. The time and amount of death were recorded, and the causes of death and related factors were analyzed emphatically. On the 15 day after surgery, 19 died; 1 died in the ninth day, and the remaining 18 died within 7 days of the operation. The postoperative death rate began to rise in the second day, and gradually decreased to 1 after the peak of the 4 th and 5 th days. The main causes of death of the mice after inoculation were closely related to the complications of surgical methods, anaesthesia, infection, antigenicity of vesicle, and liver injury. Effective prevention of these complications is the key to improve the survival rate.

Keywords: *Echinococcus multilocularis*; model; death pattern; analysis of the cause

Supported by The National Natural Science Fund of China (No.81560518)

Corresponding author: Zhang Shi-jie, Email: zhangshijie1@sina.com

国家自然科学基金项目(血管新生在肝泡球蚴侵润性生长中的作用机制研究)(No.81560518)资助

通讯作者:张示杰,Email:zhangshijie1@sina.com

作者单位:1.石河子大学医学院第一附属医院肝胆外科,石河子 832000;

2.石河子大学医学院第一附属医院肿瘤内科,石河子 832000

泡球蚴病是多房棘球蚴虫(*Echinococcus multilocularis*)感染的人兽共患病,是牧区常见的严重威胁人畜生命的寄生虫病^[1],我国多流行于新疆、甘肃、四川西部、青海、宁夏、西藏等地区。该病多原发于肝脏,呈恶性侵润性生长,持续增生的泡球蚴不断侵入肝实质、胆管和肝血管,最终导致肝硬化、腹水、

胆道梗阻、门静脉高压等严重并发症^[2],其中有3.3%和4.7%的患者可发生脑、肺转移^[3],临幊上又称之为“虫癌”。目前国内学者主要使用长爪沙鼠、子午沙鼠、灰仓鼠、昆明小鼠、SD大鼠、豚鼠等进行传代和相关实验研究^[4-6],感染泡球蚴的模型鼠陆续死亡的现实问题限制着科研工作的进展,特别是来源少、繁殖能力弱的模型鼠大批死亡更造成科研资源的浪费。本实验拟探寻肝脏接种泡球蚴的小鼠死亡是否存在规律,从而进一步推测可能的死亡原因,为有效降低术后并发症,提高生存率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 26 w(周)灰仓鼠(泡球蚴腹腔保种16 W),体重64 g,购于新疆乌鲁木齐疾病预防控制中心;10 W昆明小鼠50只(20~30 g),购于石河子大学动物实验中心。

1.2 主要材料和仪器 PBS液购于上海生工生物工程公司,光学显微镜(CX31RBSF)为购于日本Olympus公司。

1.3 原头节悬液的制备 采用人工颈椎脱臼法将腹腔感染泡球蚴18 w灰仓鼠处死,全身浸泡75%乙醇15 min,消毒解剖台,四肢固定,无菌剖腹,收集腹腔中光滑、成簇并生长良好及附着于腹壁、肠系膜、隔下、肝脏表面的新鲜泡球蚴组织,放置于盛有PBS液(PBS原液:双蒸水=1:19)的无菌碗中,依次剪碎,研磨,80纲目筛网过筛制成细小组织匀浆,倒入无菌离心管并用PBS液反复清洗,直至下层呈乳白色,上层呈清澈样分层,摇匀后抽取10 μL混悬液滴至载玻片,0.5%伊红染色,倒置显微镜下观察,可见泡球蚴原头节1~3/视野,着色率<15%,计算出10 μL原头节数目,连续3次染色计数算取平均值。离心管中加庆大霉素和青霉素注射液各250 U/mL,配制成20%原头节悬液。可将未用完剩余的悬液倒致含10%胎牛血清的RPM-1640培养液于37 °C恒温箱里保存,并每3~5 d换液1次^[7]。

1.4 实验动物模型的建立 术前准备:①50只昆明小鼠术前禁食水8 h,②紫外线消毒实验台、操作间12 h,鼠笼及垫料消毒2 h;手术简要过程:腹部皮下注射麻醉剂后固定于操作台,剃毛,碘伏消毒3遍,无菌剪于剑突下约0.5 cm处横向剪开0.5 cm切口,直视肝脏穿刺于肝被膜下注射接种0.1 mL原头节悬液(约400个活原头节),逐层关腹后切口处可撒少量的青霉素粉末;术后:侧身放入鼠笼内,烤灯照射恢复体温,24 h后常规清洁喂养。

1.5 动态观察生理变化及尸检 术后动态观察小鼠生理变化15 d,术后72 h内每隔3 h观察小鼠一次,术后3 d到15 d每6 h观察小鼠一次,并记录体征变化。发现小鼠死亡即刻行尸体解剖,详细观察手术切口、肝脏穿刺点、腹膜的特点,分析可能的死亡原因。判断方法和分类:①术后未苏醒或苏醒中肢体蜷缩、寒战、无法站立征象,随后24 h内死亡,尸体解剖发现腹腔内含大量新鲜血液,可判定为术中肝脏出血量较大诱导失血性休克所致;②术后未苏醒或苏醒后精神萎靡、步履爬行征象,尸体解剖未发现腹腔内含大量新鲜血液,判定为麻醉剂量过大或麻醉药物的毒副作用所致;③术后3 d后相继出现眼神恍惚、行走摇摆、寒战、四肢蜷缩征象,尸检发现手术切口处有黄绿色脓液流出,腹膜散在白色斑点,判定为切口及腹膜感染所致;④术后短时间内出现喷嚏、瘙痒、竖毛反应,随后出现反应迟钝、呼吸急促、四肢抽搐等征象,尸检发现肝脏接种处呈白色絮状,判定为泡球蚴的抗原性致过敏性炎症反应;⑤尸检发现肝表面呈暗红色,有散在出血点,判定为重度肝损伤所致。

2 结 果

术后15 d,50只接种泡球蚴的小鼠陆续死亡19只(图1),死亡率为38%,除术后第9 d死亡1只小鼠外,其余均死于术后7 d之内,死亡率为36%,与本课题组原先造模存活率大致相当。术后第1、2 d各死亡2只,而后死亡数量开始上升,第4~5 d持续两天最高峰,随后急剧下降,第3~5 d为术后小鼠的死亡高峰期,占总死亡量的57.8%,也是术后各种并发症的高发期(图2)。

动态观察小鼠生理变化及尸检可推断因术式或操作死亡1只(占总死亡数的5.2%),麻醉死亡2只(占总死亡数的10.4%),感染死亡7只(占总死亡数的36.8%),泡球蚴抗原性死亡4只(占总死亡数的21.1%)。

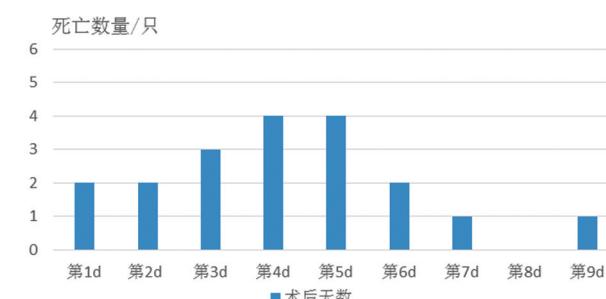


图1 手术后每日死亡量和时间的关系

Fig.1 The relationship between daily death volume and time after surgery

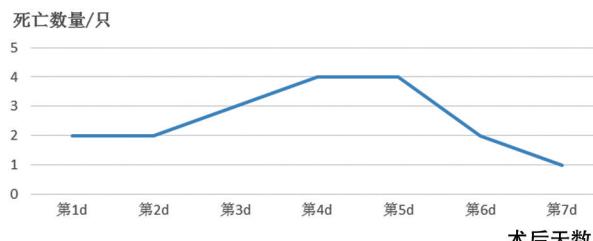


图 2 术后 7 d 内每日死亡量的变化

Fig.2 Changes in daily death volume within 7 days after surgery

21.5%),肝损伤3只(占总死亡数的36.8%),其余原因死亡2只(占总死亡数的10.4%)。感染死亡比例最大,其次为泡球蚴的抗原性死亡,两者共占总死亡量的58.3%,说明此两种情况导致的并发症是导致小鼠死亡的主要因素。

3 讨 论

肝胆解剖系统和生理功能的复杂性及特殊性是术后并发症高发的主要原因,黄庭庭^[8]分析肝胆外科的术后并发症主要与肝胆系统的病况、术式、手术技术、围手术期的管理不当有关。本实验接种泡球蚴的小鼠术前均为健康体质,无肝胆系统疾病。现将对可能致术后小鼠死亡的并发症进行深入讨论与分析。

3.1 术式与技术 现阶段肝脏接种泡球蚴的术式主要有开腹直视肝脏穿刺接种术、B超引导下或直视经皮肝穿刺接种术、腹腔穿刺接种术、门静脉侧支血管穿刺接种术、经肝门静脉穿刺接种术。张明星^[9]实验研究表明B超引导下的经皮肝穿刺有操作简单,术后反应较弱的特点,泡球蚴感染率约60%。但本实验室暂无B超仪器和掌握B超仪器操作的人员,而直接经皮肝穿刺接种可能会因操作者水平等原因导致肝脏出血、原头节悬液外漏、刺破胆囊、胸腔、消化道等,从而减低模型生存率。主要寄生于腹腔及盆腔的腹腔穿刺用于接种大鼠和沙鼠肝脏感染率为22%和77.3%^[10],此数据无法清楚的反应出原发性肝脏病灶的生长状况,现普遍作为传代保种的常规术式。门静脉侧支血管穿刺接种术模拟自然感染途径,张金辉实验中大鼠和沙鼠的肝脏感染率仅为6.3%和38.5%,极低的感染率无法保证模型接种的成功性,此方法已逐渐被淘汰;温浩^[11]发明的经门静脉穿刺接种是接近自然感染途径和较高感染率的新型术式,由于本课题组以前尚未使用过此术式,预实验中此方法的存活率仅有33.3%(3/9)。开腹直视肝脏穿刺接种术的感染率可达

90.9%^[10],此术式本课题组连续使用多年,操作者有相对成熟的技术,本次实验全部采用开腹直视肝脏穿刺法接种,该术式对手术环境条件、围手术期的工作、手术操作的规范性要求较高,落后的实验室条件、淡薄的无菌意识和粗暴的操作、较长的切口均可增加并发症的发生机率。操作者对肝脏解剖知识掌握的局限性和术中操作的失误是导致模型的死亡的重要原因之一,术中操作者过度牵拉肝脏导致较大血管破裂、刺破消化道、胆漏、胸腔均直接导致小鼠术中死亡。术后第1d死亡的1只小鼠在苏醒中有肢体蜷缩、口唇发绀、步履爬行征象,尸检发现腹腔及肝脏表面有大量新鲜血液,不排除术中损伤较大肝血管的可能。

3.2 麻醉药物与剂量 动物实验中,对实验动物的麻醉方法、剂量以及维持效果时间和苏醒时间把握的准确性关乎实验整体过程。实验室常用麻醉剂有乙醚、异氟烷、巴比妥盐酸类(戊巴比妥钠、硫喷妥钠等)、卡因类(利多卡因、普鲁卡因等)、氯胺酮等。本次使用自行配置10%水合氯醛(注射量0.3mL/100g)下腹部皮下注射麻醉,效果不明显后逐次追加注射0.05mL。水合氯醛是具有通透性臭气和腐蚀性苦味的无色透明晶体状物质^[12],一般使用浓度为10%,使用剂量为300mg/kg,麻醉持续时间约2h。作为目前国内实验室常规麻醉剂之一,不但有较好的效果和较高的安全性^[13],还具有麻醉诱导和术后苏醒较快、死亡率低、来源广泛等优点^[14]。根据注射剂量不同,水合氯醛分别有镇静、催眠、抗惊厥、昏迷和麻醉作用,作用机制主要是抑制网状结构上行激活系统^[15]。循环系统中,大剂量的水合氯醛可抑制心肌收缩和引起心律失常,小剂量无明显毒性作用^[12];神经系统中,相比其他常规麻醉药物,可较长时间脑室保持低温状态,同时吸收后的水合氯醛可被肝脏及其余组织还原成三氯乙醇,后者有中枢抑制作用,轻者可出现步态不稳、抽搐、意识障碍等征象,严重时可发生呼吸麻痹、循环衰竭;呼吸系统中,高浓度的水合氯醛可促使小鼠口腔分泌物增多,阻碍正常呼吸运动^[14],因此苏醒过程中可能出现蜷缩、不愿攀爬现象。术后3h观察,几乎所有小鼠均出现呼吸频率升高,胸、腹式混合方式呼吸的征象,个别出现抽搐、不可自行翻正、角弓反张症状,钳夹脚趾未引起回缩反射现象。术后6h观察发现除1只小鼠在苏醒中出血抽搐、精神萎靡、意识不清外,其余小鼠均可自行翻身和缓慢爬行,尸检发现腹腔及肝脏表面未见出血点。第1d死亡的2只小鼠中的1只除前面已分析的操作不当引起之外,未苏

醒小鼠的死亡可能是由过量麻醉剂抑制中枢神经系统所引起,1只苏醒后又于24 h内死亡的小鼠可能是由于水合氯醛致口腔分泌物增多而阻塞呼吸道导致。

3.3 感染

本实验在造模过程中采取以下措施防止出现因感染所致的大量死亡现象:①紫外线灭菌封闭操作室和无菌操作台12 h,换用干净鼠笼和垫料并紫外线灭菌2 h;②术前禁食水8 h,排空胃肠内容物,防止胃内容物反流致气管而导致气管阻塞、肺部感染及降低肠道菌群失调而致的腹腔感染机率;③操作者进入操作间时常规喷洒95%酒精简易消毒,手术器械均高温灭菌后使用;④麻醉仓鼠后于75%乙醇内浸泡15 min,开腹前胸部、腹部剔剪毛发,医用碘伏消毒3遍;⑤置取原头节悬液后加入青霉素和庆大霉素注射液各250 U/mL;⑥关腹时于手术切口处撒下少量青霉素粉末。根据实验操作流程和实验结果分析,感染可由以下几种情况所致:①术后的应激状态可使肠粘膜屏障功能损伤,大量肠道细菌和内毒素进入门静脉系统,而内毒素又增加肠粘膜通透性和促肠道正常菌群的移位,同时损害机体免疫功能^[16]。而术后短期内肝功能的下降使进入门静脉的肠道菌群及内毒素无法在短时期内完全清除而进入体循环,从而诱发全身性炎症反应,进而导致脓毒血症的发生^[17],后者常伴有感染性休克,造成微血管循环障碍、毛细血管通透性增高,小鼠出现寒战、萎靡不振、躯体蜷缩等现象,诱发多器官功能障碍综合征(MODS),最终死于多系统器官衰竭(MOSF),Sumpio^[18]研究证实内毒素的增敏效应也是机体发生MODS的重要过程;②关腹后未对手术切口包扎处理及未定期对切口处消毒换药,切口完全暴露于空气中,小鼠对伤口的抓挠极大增加手术切口感染的风险,小鼠平躺或侧躺时切口脓液反流至腹腔可诱发腹腔感染及急性腹膜炎发生;③根据李金宝等^[17]的促炎/抗炎平衡失衡理论,当促炎反应的作用大于抗炎反应时,机体对外来刺激的反应过于强烈使自身细胞损伤增强,此机制极易诱发MODS,当抗炎反应占优势时,机体产生的“免疫麻痹”使对外来刺激的反应迟钝,增强感染机率并使现有的炎症无法控制,最后可能导致脓毒血症及MOSF。术后对小鼠不定时的观察发现:第3 d后数只造模小鼠相继出现嗜睡状态、少动、痛觉迟钝、厌食、呼吸加快症状,随后出现寒战、精神萎靡,最后死亡。19只小鼠尸检中发现有5只手术切口处可见青绿色液体,并伴有恶臭,解剖腹腔发现中有7只小鼠(包括切口处有脓液的5只)腹膜上有白色斑点状液体。根据以上分析可推测造模小鼠的直接死亡

原因可能是急性腹膜炎或脓毒血症导致的MOSF,而手术切口感染或腹腔感染是死亡的主要间接原因。

3.4 泡球蚴的抗原性

本次实验使用1 mL注射器于肝被膜下接种0.1 mL 20%的原头节悬液(约400—500个活的原头节)。泡球蚴的抗原性可诱发机体迅速产生非特异性免疫和特异性免疫,其中短时间强烈的炎症反应可导致致命的过敏性休克。近年来国内外学者们对泡球蚴免疫发病机制的进行深入研究,发现泡球蚴在体内生长时受到血液及组织中嗜酸性粒细胞、吞噬细胞、NK细胞(自然杀伤细胞)等的非特异性免疫抵抗。吞噬细胞产生的NO可直接或者间接杀死原头节^[19]。实验研究发现感染泡球蚴患者血清中NK细胞的活性和比率明显较正常组低,由此推断感染者血液中可能存在一种由泡球蚴的抗原性产生,并抑制NK细胞发挥免疫机制或者直接杀死NK细胞的物质^[20-21]。体液免疫的研究发现泡球蚴患者的血清存在IgG、IgA、IgE和IgM特异性抗体。感染泡球蚴的小鼠IgE水平逐渐增加表明I型速发型过敏反应在体液免疫中起主导作用,受IL-4和IL-5刺激的IgE还参与泡球蚴囊泡周围肉芽肿的形成^[22]。包虫早期感染指标IgM也可作为评价手术质量的重要指标^[23]。泡球蚴蛋白抗原以各种形式与巨噬细胞、B细胞、DC细胞(树突状细胞)等表面的抗原决定簇结合后被吞噬到细胞内,DC细胞快速启动免疫应答,同时变成成熟DC细胞,后者激发特异性细胞毒性T淋巴细胞^[24]。受到泡球蚴刺激的初始T细胞活化为效应T细胞,其中Th1细胞分泌的IL-2和IFN-γ增强细胞免疫反应,而Th2细胞分泌的IL-4、IL-5、IL-6、IL-10促进体液免疫,两者相关拮抗。感染泡球蚴的小鼠前8周细胞免疫主要以CD4⁺为主导,大量CD4⁺细胞在原头节周围聚集成肉芽肿的形式,呈保护性免疫状态,随后CD8⁺细胞水平上升使机体形成有利于泡球蚴体内繁殖的免疫抑制状态^[25-26]。术后1 h内数只小鼠出现抓鼻挠嘴、喷嚏、精神萎靡、四肢抽搐等过敏反应症状,尸检发现1只小鼠口角有新鲜血液,考虑为过敏所致的肺水肿及肺淤血,另有3只小鼠肝脏接种处有白色絮状斑点,考虑为炎症反应带。小鼠在感染泡球蚴后,体内非特异性免疫、特异性细胞免疫和特异性体液免疫相互作用导致各器官的严重损伤可能是小鼠术后死亡的直接原因之一,另外严重的过敏性休克所致的心血管及呼吸系统的损伤可加速小鼠死亡。

3.5 肝损伤

肝脏损伤是各种泡球蚴接种术中最常见的并发症,术中肝破裂可致失血性休克和急

性肝衰竭,另外炎症所致的肝脏细胞坏死也可造成肝脏损伤,两种方式极大提高造模死亡率。以下具体分析肝损伤的原因:①操作者技术不娴熟、不正规或对于肝脏解剖结构认识不到位、术中穿刺部位过深、多次穿刺均可造成严重损伤肝脏,另外肝内胆管的破裂使胆汁外漏而腐蚀正常肝脏组织;②原头节作为外原性抗原可使接种泡球蚴的病灶周围形成炎性反应带,炎性反应的蔓延可在短时间内造成大量正常肝细胞的损伤变性和死亡,随着肝细胞正常代谢工作的减退与停止,有毒物质在机体内大量堆积,随着时间延长还可形成弥漫性肝纤维化和散在的钙化灶。以上原因导致的肝损伤和肝功能障碍最后可演化成急性肝脏衰竭和肝昏迷,这可能是术后小鼠死亡的原因之一。尸检中发现3只小鼠的肝脏表面呈暗红色,有散在出血点,证实可能死于肝损伤所致的急性肝功能衰竭。

综上所述,小鼠在泡球蚴接种后的死亡主要与各种并发症的发生有关,其中与手术方式、麻醉、感染、泡球蚴的抗原性、肝损伤等密切相关,另外还可能与消化道出血、腹腔积液、胆漏、急性肾脏衰竭有关。对各种并发症的发生需操作者提高警惕,但因各种条件有限,对并发症的处理还需进一步研究。

参考文献:

- [1] Tumol'skaia NI. Cases of human alveococcosis in the European part of Russia[J]. Med Parazitologii I Parazitarnye Bolezni, 2010, 7-9(3):45-47.
- [2] Küster T, Hermann C, Hemphill A, et al. Subcutaneous infection model facilitates treatment assessment of secondary alveolar echinococcosis in mice[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2013, 7(5): e2235. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002235.
- [3] Jiang CP. Progress of alveolar echinococcosis in China[J]. Chin Med J, 1998, 111(5):470-475.
- [4] Israin O, Jiao W, Liao LF, et al. Comparative observation on experimental infection with *Echinococcus multilocularis* in *Cricetulus migratorius* and *Meriones meridianus*[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 1998, 16(2):130-132.(in Chinese)
伊斯拉音·乌斯曼,焦伟,廖力夫,等.灰仓鼠和子午沙鼠土鼠实验感染多房棘球蚴的比较观察[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1998,16(2):130-132.
- [5] Wang JZ, Sun HY. An animal model for the study of alveolar hydatid disease[J]. Endem Dis Bull, 1988, 3(1):37-39.(in Chinese)
王静珍,孙厚英.泡球蚴病动物模型的研究[J].地方病通报,1988,3(1):37-39.
- [6] Wang X, Liu QF, Li JC, et al. Experimental observation of rats as conservation model animals for alveolar hydatid cyst[J]. J Pathog Biol, 2011, 6(10):739-741.(in Chinese)
王昕,刘巧凤,李晋川,等.大鼠作为泡球蚴保种动物模型的实验观察[J].中国病原生物学杂志,2011,06(10):739-741.
- [7] Zhao JF, Xia HY, Yu XF, et al. Effects of different culture media on *Echinococcus multilocularis* protoscoleces at different temperatures in vitro[J]. Chin J Zoonoses, 2015, 31(3):244-246.(in Chinese)
赵阶峰,夏海洋,郁晓峰,等.不同培养基及不同温度对体外培养泡球蚴原头节的影响[J].中国人兽共患病学报,2015,31(3):244-246.
- [8] Huang YT. To reduce the complication of hepatobiliary surgery [J]. J Hepatobi Surg, 2002, 10(6):401-402.(in Chinese)
黄庭庭.努力降低肝胆外科手术并发症[J].肝胆外科杂志,2002,10(6):401-402.
- [9] Zhang MX, Ren SX, Bawudun D, et al. Comparison on ultrasound guided percutaneous and laparotomic inoculation techniques in rat hepatic *Echinococcus multilocularis*[J]. Chin J Med Imag Technol, 2011, 27(5):882-885.(in Chinese)
张明星,任伟新,迪理木拉提·巴吾冬,等.大鼠肝泡状棘球蚴病超声引导下经皮穿刺与开腹造模的比较[J].中国医学影像技术,2011,27(5):882-885.
- [10] Zhang JH, Wen H, Liu ZS. Establishment of animal model for primary[J]. Chin J Regional Anatomy Opera Surg, 2000, 9(1): 11-13.(in Chinese)
张金辉,温浩,刘章锁.原发性肝泡球蚴动物模型的建立[J].局解手术学杂志,2000,9(1):11-13.
- [11] Wen H. The construction of an animal model of alveolar echinococcosis infected by the hepatic portal vein via the hepatic portal vein: China, CN 106236318A[P]. 2016-12-21.(in Chinese)
温浩.泡球蚴经肝门静脉途径感染肝脏的泡型包虫病动物模型的构建方法:中国,CN 106236318A[P]. 2016-12-21.
- [12] Zhou K, Qu CQ. Comparison and selection of commonly used anesthetics in animal experiments[J]. Lab Anim Sci, 2008, 25 (2):41-43.(in Chinese)
周昆,屈彩芹.动物实验常用麻醉剂的比较与选择[J].实验动物科学,2008,25(2):41-43.
- [13] Xu P. Management of experimental animals and Operation technical specification[M]. Shanghai: Scientific and Technical Publishers, 2007, 171-174.(in Chinese)
徐平.实验动物管理与使用操作技术规程[M].上海:上海科学技术出版社,2007,171-174.
- [14] Zhou J, Li Y, Zhang WY. An experimental study on the effect of chloral hydrate and pentobarbital sodium on the anesthetic effect of KM mice[J]. Med Informa, 2010, 23(10):3795-3796. (in Chinese)
周洁,李旸,张稳燕.水合氯醛和戊巴比妥钠对KM小鼠麻醉效果实验研究[J].医学信息,2010,23(10):3795-3796.
- [15] Zhong WB, Yin M. Pharmacology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012:254.(in Chinese)
钟伟邦,殷明.药理学[M].北京:人民卫生出版社,2012:254.
- [16] Yao YM, Yu Y, Fang WH, et al. The significance of lipopolysaccharidebinding protein and lipopolysaccharide receptor CD14 in increasing sensitivity to endotoxin response and multiple organ damage following trauma[J]. Chin Critical Care

- Med, 1998, 10(12): 712-718. (in Chinese)
- 姚咏明, 于燕, 方文慧, 等. 创伤后内毒素增敏效应在多器官损害中的作用[J]. 中华危重病急救医学, 1998, 10(12): 712-718.
- [17] Li JB, Deng XM. Research progress of multiple organ dysfunction syndrome[J]. J Practical Med, 2007, 23(1): 4-5. (in Chinese)
- 李金宝, 邓小明. 多器官功能障碍综合征的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(1): 4-5.
- [18] Sumpio BE, Riley JT, Dardik A. Cells in focus: endothelial cell [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002, 34(12): 1508-1512.
- [19] He HX, Zhang XC, Zhang XL. Advances on relationship between nitrogen monoxide and parasites infection[J]. Chin J Vet Parasitol, 2001, 9(1): 41-44. (in Chinese)
- 何宏轩, 张西臣, 张晓龙. 一氧化氮和寄生虫感染[J]. 中国动物传染病学报, 2001, 9(1): 41-44.
- [20] Dewei WU, Xueqin DU, Jinge LI. Specific cellular and humoral immune responses induced by DMA vaccine of HBV surface gene in mice[J]. Tianjing Med J, 2001, 29(4): 217-279.
- [21] Li FR, Shi YE, Shi DZ, et al. Observation of lymphocyte from hosts with alveolar echinococcosis[J]. Chin J Zoonoses, 2003, 19(3): 91-94. (in Chinese)
- 李富荣, 石佑恩, 史大中, 等. 泡状棘球蚴病宿主淋巴细胞的变化及意义[J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19(3): 91-94.
- [22] Li FR, Shi YE, Shi DZ, et al. Observation on the level of serum Th1/Th2 cytokine in patients with alveolar echinococcosis[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2002, 20(6): 376-377. (in Chinese)
- 李富荣, 石佑恩, 史大中, 等. 泡球蚴病患者血清中 Th1/Th2 型细胞因子水平的观察[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20(6): 376-377.
- [23] Jenne L, Arrighi J F, Sauter B, et al. Dendritic cells pulsed with unfractionated helminthic proteins to generate antiparasitic cytotoxic T lymphocyte[J]. Parasite Immunol, 2001, 23(4): 195-201.
- [24] Shu Q, Mao ZH. A/J mice infected with secondary *Echinococcus multilocularis*: The relationship between the retardation development of alveolar echinococcus and Th1 cytokine[J]. Int J Med Parasit Dis, 1998, 25(6): 280-281. (in Chinese)
- 舒勤, 毛佐华. 继发性多房棘球绦虫感染的 A/J 小鼠: 泡球蚴迟滞发育与 Th1 细胞因子的关系[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 1998, 25(6): 280-281.
- [25] Li FR, Shi YE, Shi DZ, et al. Study on CD4⁺ cells deletion mechanism in experimental alveolar echinococcosis[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2003, 21(4): 197-202. (in Chinese)
- 李富荣, 石佑恩, 史大中, 等. 多房棘球蚴感染宿主 CD4⁺ T 淋巴细胞缺失机制的探讨[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(4): 197-202.
- [26] Manfras BJ, Reuter S, Wendland T, et al. Increased activation and oligoclonality of peripheral CD8⁺ T cells in the chronic human helminth infection alveolar echinococcosis[J]. Infect Immun, 2002, 70(3): 1168-1174. DOI: 10.1128/AI.70.3.1168-1174.2002

收稿日期: 2017-08-08 编辑: 王晓欢

有关投稿? 微我吧!
有关录用? 微我吧!
自荐专家? 都请微我吧!

