

中国西部不同地区泡球蚴对小鼠的感染性研究

杨晨晨^{1,2}, 马磊³, 吴熙然⁴, 李志强⁵, 寿玺⁵, 张春⁵, 魏琴⁵, 姜涛⁵

摘要 目的 建立不同地区泡球蚴腹腔感染小鼠动物模型, 分析并比较 3 种不同地区泡球蚴对小鼠的感染性。方法 40 只 BALB/c 小鼠分为 4 组: 对照组(10 只)、EM-1 组(青海株, 10 只)、EM-2 组(新疆株, 10 只)和 EM-3 组(四川株, 10 只), 建立小鼠腹腔感染动物模型, 180 d 后称重, 处死, 计算感染率, 分离原头蚴, 将各组小鼠的肝脏用 4% 多聚甲醛固定, HE 染色, 统计原头蚴个数, 分别于感染后 7 d, 1、3、6 个月采用小鼠眼内眦静脉取血, 测定天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、嗜酸性粒细胞(EOS)水平和白细胞(WBC)、红细胞(RBC)及血小板(PLT)的含量。结果 3 种不同地区的泡球蚴腹腔感染小鼠血常规和肝功能指标差异无统计学意义。不同地区的泡球蚴对小鼠的致病性存在差异, 其中 EM-2 感染小鼠后, 肝脏原头蚴数量最多; EM-3 的原头蚴数量最少。EM-2 组小鼠感染率最高(77.8%); EM-3 感染率最低(62.5%)。经 HE 染色后, 实验各组的肝组织低倍镜下可见散在的大小不等的囊泡, EM-2 感染小鼠肝细胞坏死最为明显, 肝脏坏死损伤面积大。结论 该研究成功建立了 3 个不同地区的泡球蚴腹腔感染动物模型, 不同地区的泡球蚴对小鼠的致病性存在差异, 其中以新疆株的感染力最强, 四川株的感染力最弱。**关键词** 泡型包虫病; 原头蚴; 腹腔感染; 新疆株; 青海株; 四川株

中图分类号 R 38

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)02-0208-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.008

包虫病分为囊型包虫病(*cystic echinococcosis*, CE)和泡型包虫病(*alveolar echinococcosis*, AE)两种^[1]。AE 是由多方棘球绦虫(*Echinococcus multilocularis*, *E. multilocularis*)的幼虫(泡球蚴)寄生于人体所致的一种致死性寄生虫病, 又称为泡球蚴病,

该病几乎原发于肝脏。研究发现, 其病灶缓慢生长, 类似于缓慢进展的恶性肿瘤, 所以该病有“虫癌”之称^[2]。在中国, 第一批人类病例是在 20 世纪 60 年代从西部地区报道的^[3], AE 在中国的流行地区主要集中于新疆维吾尔自治区西北地区、青藏高原东部地区、宁夏南部及甘肃中南部等^[4]。不同属地的泡球蚴对人类及家畜感染率有很大差异, 通过对不同属地泡球蚴对症治疗, 可进一步为治疗干预泡球蚴病提供依据。该研究拟对新疆、青海、四川三地来源的泡球蚴对宿主肝脏的感染性作比较, 分析不同地区泡球蚴的感染特点, 为不同地区的 AE 临床治疗提供思路 and 方向。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与设备 手术器械(手术刀、手术剪、粗剪刀、手术镊、血管钳等)购自北京铭成嘉业科技发展有限公司, 超净台(苏州净化有限责任公司, SW-CJ-2F), 石蜡切片机(德国 Leica), 倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 冷冻离心机(Eppendorf), 生化仪(BS-420, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司), 血球仪(BC-5000vet, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

1.2 主要试剂 0.1% 伊红、苏木精购自北京中杉金桥生物试剂有限公司, 磷酸盐缓冲液(PBS)购自上海生物工程有限责任公司, 二甲苯购自福晨化学试剂有限公司, 胃蛋白酶购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino transferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)试剂盒、血球试剂包购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.3 实验动物分组 40 只 BALB/c 小鼠购自新疆医科大学动物实验中心, 动物生产许可证号: SCXK(新)2018-0001, 动物使用许可证号: SYXK(新)2018-0003。按泡球蚴来源地的不同, 将 BALB/c 小鼠分为 4 组: 对照组(10 只)、EM-1 组(青海株, 10 只)、EM-2 组(新疆株, 10 只)和 EM-3 组(四川株,

2020-09-15 接收

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号: 2018D01C190)

作者单位: ¹ 无锡太湖学院护理学院基础医学教研室, 无锡 214600

新疆医科大学² 基础医学院、⁵ 动物实验中心, 乌鲁木齐 830054

³ 新疆医科大学第二附属医院, 乌鲁木齐 830063

⁴ 国际旅行卫生保健中心, 乌鲁木齐 830011

作者简介: 杨晨晨, 女, 博士研究生;

姜涛, 男, 高级实验师, 责任作者, E-mail: 455935623@qq.com

10 只),感染期为 6 个月,实验获得新疆医科大学第一附属医院伦理委员会审批通过,伦理审批号: IACUC20170706-01,实验动物在新疆医科大学动物实验中心实验,遵循 3R 原则统一管理。

1.4 泡球蚴腹腔感染模型的建立 将新疆、青海、四川地区的长爪沙鼠种鼠,颈椎脱臼后处死,在无菌条件下解剖,打开腹腔,取出腹腔的泡球蚴组织,在操作过程中尽量避免剪碎泡状组织造成污染,收集腹腔中光滑、成簇生长及附着于腹壁、肠系膜、肝脏表面的新鲜泡球蚴组织,置于倒有适量抗生素生理盐水的培养皿中,剔除组织块表面组织,用 PBS 清洗 3~5 遍,研磨,80 目尼龙筛过滤制成匀浆,收集匀浆倒入离心管中,用 PBS 液反复清洗,直至分为三层,取中层添加 PBS 吹打数次,静置数分钟,重复此步骤 3 次后,将收集的原头蚴合并,加入终浓度为 1% 的胃蛋白酶(pH 2.0)于 37 °C 消化 15~30 min。加生理盐水用巴士管充分吹打液体,抽取 10 μ l 混悬液,用 10 μ l 0.4% 台盼蓝染色,计算活力^[5]。将所有实验小鼠进行腹腔注射,对照组腹腔注射 1 ml 生理盐水。其余 3 组用生理盐水制成不同来源地的泡球蚴原头节,原头蚴稀释至 2 000 个/ml,将 1 ml 混悬液接种于 BALB/c 小鼠制备泡球蚴动物模型。

1.5 血常规、血生化检测 分别于感染后 7 d、1、3、6 个月采用小鼠眼内眦静脉取血,全血以 3 000 r/min 离心 5 min,取血清,采用生化分析仪测定血清中 ALT、AST、ALP 含量,全血细胞仪测定全血中白细胞(white blood cell, WBC)、红细胞(red blood cell, RBC)及血小板(platelet, PLT)、嗜酸性粒细胞(eosinophilic granulocyte, EOS)的含量。

1.6 肝脏组织标本取材及苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色 6 个月时,采血后麻醉小鼠,采用颈椎脱臼法处死,取其肝脏组织及感染的包囊,标本经 4% 多聚甲醛固定 48 h 后,取出进行石蜡包埋,3 μ m 切片,进行 HE 染色,在 100 倍视野下,计数原头蚴个数。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件包对数据进行统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据经 Kolmogorov-Smirnov 检验符合正态分布,经 Leven 检验各组数据方差齐。血常规和生化数据分析主体效应检验采用重复测量方差分析,各组数据比较采用 ANOVA 检验。采用 Graphpad 8.0 软件进行绘图,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 BALB/c 小鼠在不同时期血常规的比较

采用重复测量方差分析的统计学方法对血常规数据进行分析,项目包括 WBC、RBC、EOS、PLT,球形检验 $P < 0.05$,不服从球形检验,参看多变量检验结果,对于因子,在不同的时间 WBC、RBC、EOS、PLT 改变不同,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明各组在 7 d、1、3 及 6 个月 4 个时间点的 WBC、RBC、EOS、PLT 不同。对于因子和分组,4 组对应的 $P < 0.05$,表明 4 组间 WBC、RBC、EOS、PLT 也不同。进一步采用 LSD 法进行两两比较,再进行两两比较通过 Bonferroni 法进行校正,与对照组比较,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组 WBC、EOS 差异均有统计学意义($P < 0.05$),RBC、PLT 组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组数据比较采用 one-way ANOVA 检验,在感染 6 个月时,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组 WBC 高于对照组($P < 0.05$),在感染 3 个月时,与对照组比较,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组 EOS 差异有统计学意义($P < 0.05$),3、6 个月时 PLT 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

2.2 各组 BALB/c 小鼠在不同时期肝功能的比较

4 组间 AST、ALP 水平不同。进一步采用 LSD 法进行两两比较,再进行两两比较通过 Bonferroni 法进行校正,与对照组比较,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组 AST、ALP 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组数据比较采用 one-way ANOVA 检验,在感染 1、3、6 个月时,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组 AST 高于对照组($P < 0.05$),感染 6 个月时,EM-2 组、EM-3 组 ALT 高于对照组($P < 0.05$),在感染 1、3、6 个月时,EM-1、EM-2、EM-3 组 ALP 明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2,表 1。

2.3 各组 BALB/c 小鼠存活情况及包囊感染情况

6 个月终止实验时,对照组均存活,EM-1、EM-2、EM-3 组小鼠均发现有死亡,未发生感染的小鼠。各组小鼠包囊感染只数见表 2。其中 EM-2 组小鼠感染率最高,达 77.8%,EM-3 感染率最低,仅为 62.5%。

小鼠腹部亦明显增大,麻醉后打开小鼠腹腔,EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组均可见大小不等囊泡,分布于腹腔,泡球蚴呈大小不等的菜花样,类似肿瘤的一些团块样病灶组织,表面可见血管生成。部分

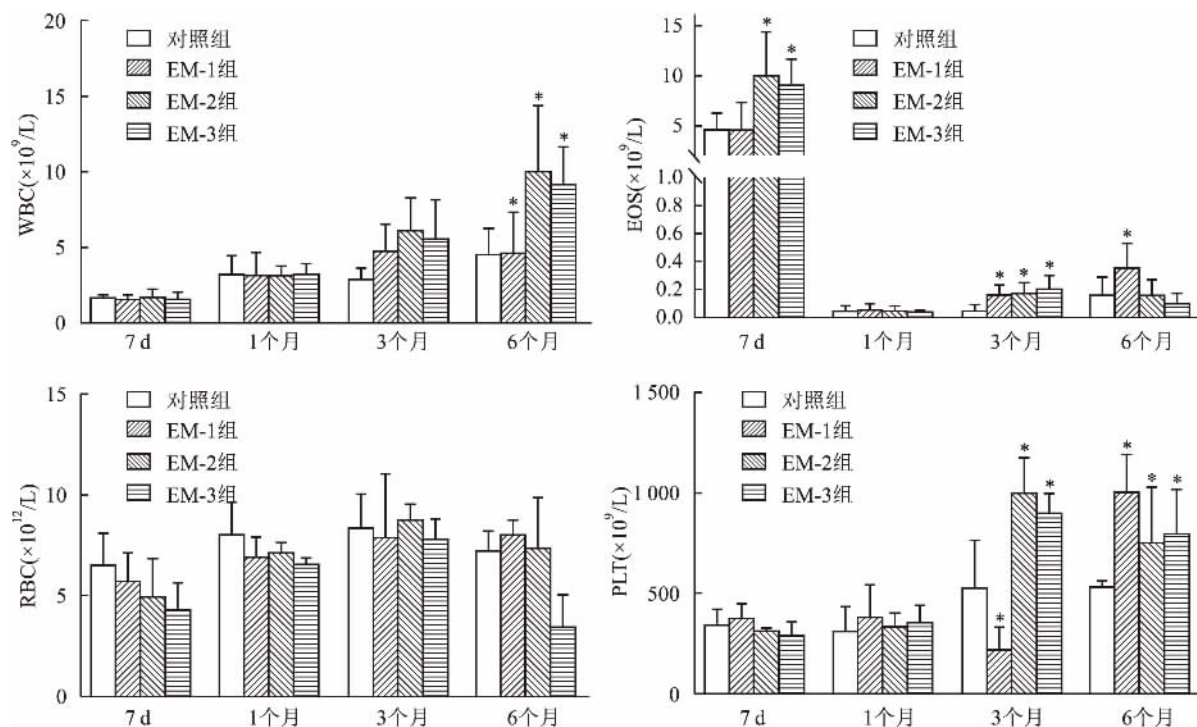


图1 各时间点各组 BALB/c 小鼠血常规

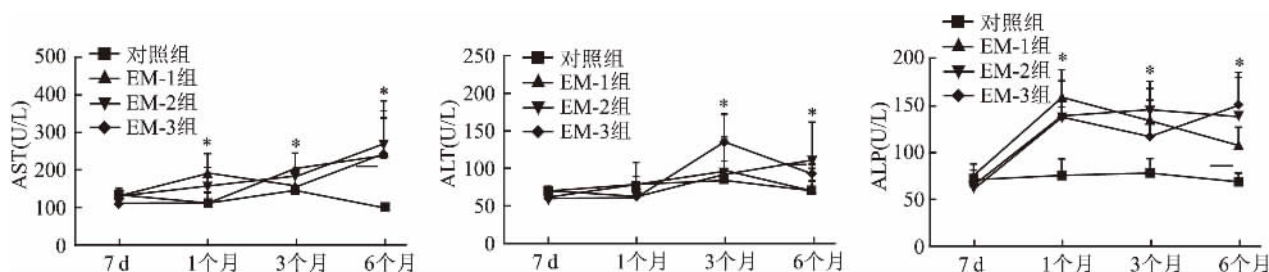
与对照组比较: * $P < 0.05$ 

图2 各组小鼠在各时间点肝功能的比较

与对照组比较: * $P < 0.05$

表1 各组小鼠在不同时间段肝功能指标值比较

指标	时间	对照组	EM-1 组	EM-2 组	EM-3 组
AST(U/L)	7 d	133.06 $\pm$ 18.51	129.35 $\pm$ 21.98	130.10 $\pm$ 13.06	110.34 $\pm$ 9.93
	1 个月	110.96 $\pm$ 28.64	191.12 $\pm$ 51.44*	156.00 $\pm$ 49.32*	109.81 $\pm$ 10.63
	3 个月	146.01 $\pm$ 22.47	157.40 $\pm$ 19.89	182.90 $\pm$ 62.03*	199.30 $\pm$ 50.22*
	6 个月	101.10 $\pm$ 10.28	243.52 $\pm$ 264.77*	268.41 $\pm$ 114.74*	241.78 $\pm$ 98.13*
	7 d	68.70 $\pm$ 6.97	63.28 $\pm$ 6.67	60.24 $\pm$ 2.41	71.08 $\pm$ 5.30
ALT(U/L)	1 个月	76.54 $\pm$ 13.38	79.20 $\pm$ 28.95	62.59 $\pm$ 3.40	62.72 $\pm$ 7.52
	3 个月	85.34 $\pm$ 14.36	97.20 $\pm$ 13.40	93.81 $\pm$ 48.41	136.26 $\pm$ 63.76*
	6 个月	71.57 $\pm$ 30.44	71.30 $\pm$ 12.52	111.14 $\pm$ 51.87*	94.10 $\pm$ 12.90*
	7 d	70.50 $\pm$ 10.28	75.02 $\pm$ 11.20	61.39 $\pm$ 9.71	64.58 $\pm$ 3.16
ALP(U/L)	1 个月	75.46 $\pm$ 16.20	158.18 $\pm$ 29.10*	137.53 $\pm$ 10.58*	136.76 $\pm$ 39.14*
	3 个月	77.97 $\pm$ 14.73	133.83 $\pm$ 34.56*	144.38 $\pm$ 30.54*	116.40 $\pm$ 38.61*
	6 个月	68.74 $\pm$ 8.73	107.22 $\pm$ 18.74*	138.11 $\pm$ 46.40*	150.38 $\pm$ 29.16*
	7 d	70.50 $\pm$ 10.28	75.02 $\pm$ 11.20	61.39 $\pm$ 9.71	64.58 $\pm$ 3.16

与对照组比较: * $P < 0.05$

BALB/c 小鼠在脾脏表面也有发现转移的泡球蚴组织。从大体观察,3 组小鼠囊泡未见明显差异,见图3。

2.4 腹腔感染后各组小鼠体质量的变化 实验6

个月,对各株感染的 BALB/c 小鼠进行称重,感染后体质量明显高于感染前,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组实验前后体质量没有明显变化。组

表2 各组小鼠感染情况

组别	来源	计划动物数 (只)	存活数 (只)	感染数 (只)	感染率 (%)
对照	—	10	10	0	0
EM-1	青海	10	8	6	75.0
EM-2	新疆	10	9	7	77.8
EM-3	四川	10	8	5	62.5

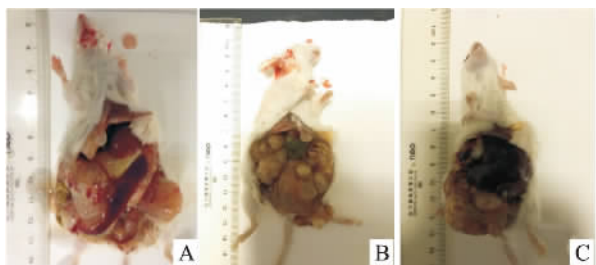


图3 小鼠泡状蚴感染模型的大体观察

A: EM-1 组; B: EM-2 组; C: EM-3 组

间比较, EM-1 组、EM-2 组和 EM-3 组间体质量差异有统计学意义 ($F = 51.699, P < 0.001$), 体质量均高于对照组, 但 EM-1 组、EM-2 组和 EM-3 组 3 组间体重量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4。

2.5 各组 BALB/c 小鼠包囊产生原头蚴的数量

通过小鼠包囊进行 HE 染色, 可观察到大量原头蚴, 在 100 倍视野下, 选择 5 个视野, 对包囊内原头蚴数量进行观察, EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组产生包囊数量分别为 (150 ± 36.06)、(220 ± 33.47)、(78 ± 16.43) 个, 3 组经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 28.550, P < 0.001$), 两两比较, EM-2 组原头蚴数量高于 EM-1 组、EM-3 组, 差异有统计学意义。

2.6 组织病理学观察 各组小鼠肝脏组织经 HE 染色后, 对照组肝脏组织呈正常状态, 肝小叶结构正常, 肝细胞排列整齐, 边界清晰 (图 5A、A1); 实验各组的肝组织低倍镜下可见散在的大小不等的囊泡,

囊泡外围可见大量炎性细胞增生 (EOS、淋巴细胞等, 以淋巴细胞居多), 囊泡壁伴有新生肉芽组织形成及纤维组织增生 (图 5B、C、D), 尤其以新疆株感染小鼠肝细胞坏死最为明显, 可见泡状蚴囊泡体积较大, 肝脏坏死损伤面积大, 炎性细胞浸润, 没有完整的肝小叶, 囊泡中央已经充满原头蚴和囊液, 囊泡壁外周的肝细胞较正常变小, 核增大, 部分肝细胞有异型增生改变 (图 5B、B1)。青海株的肝脏低倍镜下可见散在分布的大小不等的泡状蚴囊泡及数量不等的炎性细胞增生 (图 5C), 高倍镜下可见囊泡壁伴有新生肉芽组织形成及纤维组织增生, 可见淋巴细胞及浆细胞等呈窦性浸润生长 (图 5C1)。四川株的肝脏低倍镜下也可见散在分布的大小不等的泡状蚴囊泡及数量不等的炎性细胞增生 (图 5D), 但数量远不及前两组, 损伤范围也较少; 高倍镜下可见肝细胞脏结构被破坏, 肝索排列紊乱, 肝门静脉周围有炎性细胞增生, 增生的细胞以淋巴细胞和浆细胞为主, 增生的细胞和纤维组织已经完全破坏了肝脏结构 (图 5D1)。

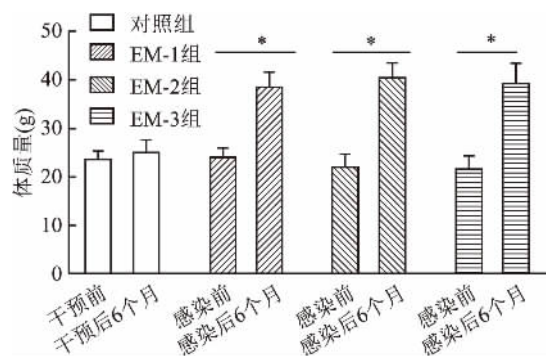
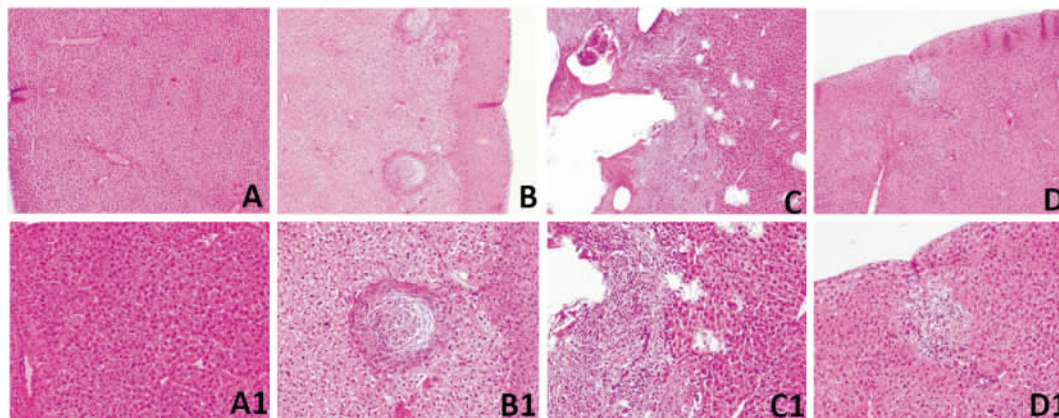
图4 感染前和感染6个月各组 BALB/c 小鼠体质量的变化
与感染前比较: * $P < 0.05$ 

图5 接种6个月肝脏组织 HE 染色

A: 对照组; B: EM-1 感染; C: EM-2 感染; D: EM-3 感染; A ~ D: $\times 100$; A1 ~ D1: $\times 200$

在 100 倍视野下观察肝脏中原头蚴个数, EM-2 组的原头蚴数量最多, EM-3 组的原头蚴数量最少, 结果与“2.5”项下包裹中原头蚴个数观察的感染情况一致, 经单因素方差分析显示, EM-1 组、EM-2 组、EM-3 组三组原头蚴数量差异有统计学意义 ($F = 27.246, P < 0.001$), 经两两比较, EM-2 组原头蚴数量最多, 高于 EM-3 组和 EM-1 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。三组产生原头蚴数量的比较见图 6。

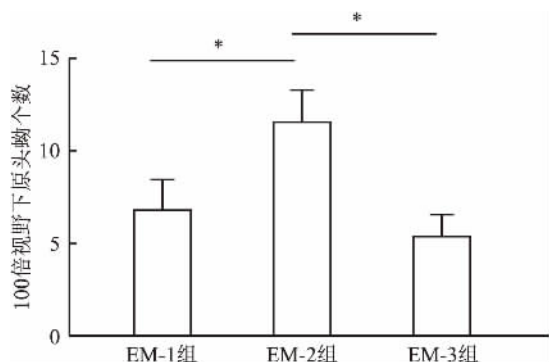


图 6 腹腔感染后各组原头蚴数量
与 EM-2 组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

AE 和 CE 是包虫病两个类型, AE 在肝脏内浸润性生长, 可产生恶性肿瘤样发展和致命后果; CE 呈多囊性外观, 形成具有坏死区域的浸润性病变^[6]。Kern et al^[7]报道, 与 AE 相关的临床表现类似于“恶性表现”, 是一种无声进展的肝脏疾病, 并伴有局部组织浸润和转移。研究泡球蚴感染过程中的主要病理变化及动态过程, 可为泡球蚴的致病机制和治疗提供线索。

泡球蚴对人类及家畜的感染率存在地区差异。泡球蚴病在中国主要流行于新疆、甘肃、宁夏、青海、四川等省区。西藏地区 AE 的感染率为 0.18%。2016 年西藏自治区包虫病流行病学调查显示, 人群发病率为 1.66%, 推测西藏全区大约有 5 万患者^[8]; 青海省人群棘球蚴病感染率为 0.18% ~ 8.23%^[9]; 新疆 AE 高危人群数量达 580 万, 暴露人群感染率约为 0.2%^[10]。推测不同地区人群感染率差异可能与棘球蚴致病性有关。有关中国各地泡球蚴致病机制和致病特点尚不清楚。

李新兰等^[11]发现中国 3 个地区多房棘球绦虫在蛋白成分、抗原性及抗原分布上的不同。但查阅文献, 少有不同来源地泡球蚴对宿主肝损伤的相关

实验研究。本研究拟建立 3 株不同源地(新疆株、四川株和青海株)泡球蚴在 BALB/c 小鼠中稳定传代保种动物模型, 分析不同来源地泡球蚴感染 BALB/c 小鼠后存在致病性的差异性和病理特征。

本研究使用不同来源地的泡球蚴, 经腹腔接种实验小鼠, 7 d、1、3、6 个月时进行血常规和血生化的检测。AST、ALT、ALP 是衡量肝脏损伤的发生指标, 本研究发现, 在感染 6 个月时, EM-1、EM-2、EM-3 组小鼠 AST 和 ALT、ALP 均高于对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示小鼠发生了造模后的严重肝脏损伤。但是对各组感染小鼠进行比较, 血常规各项指标和肝功能指标在各个时间均差异无统计学意义, 提示虽然来自不同地域, 感染不同来源地的泡球蚴对宿主血常规和肝功能指标的影响差异无统计学意义。

本研究通过腹腔注射发现, 3 株泡球蚴接种后, 泡球蚴形态相似, 较透明。从发生肝脏感染的个数观察, EM-2 组感染率最高, EM-3 组感染率最低。从肝脏 HE 染色结果显示, EM-2 组原头蚴的数量普遍高于另外两组。不同来源泡球蚴株的感染性存在一定的差异, 以新疆株的感染性最强感染, 四川株感染最弱, 在建立不同来源地动物模型感染时, 根据感染强弱的不同。可以根据需要建立不同的模型。

另外, 本研究建立了不同来源地泡球蚴的感染模型, 而接种时间和数量的不同, 小鼠建立的泡球蚴动物模型特征也会不同, 原头节接种太少, 动物能够感染但不易感染; 接种量太大, 容易导致动物因感染过度而引起死亡, 所以在原头节接种量的研究上, 多数试验的接种原头节数为 1 800 ~ 2 000 个。后续实验还可将对 3 株不同来源地泡球蚴模型探讨注射时间、接种途径对泡球蚴感染的模型影响的进一步研究, 为研究其致病性的特点和发病机制奠定实验基础。

徐艺玫等^[12]用多房棘球蚴对灰仓鼠进行腹腔接种, 外观肉眼观察有棘球蚴包囊生长、显微镜镜检查发现有原头节生长。廖力夫等^[13]尝试用腹膜穿刺肝脏接种的方法接种灰仓鼠, 结果接种的 17 只有 8 只腹腔出现包囊, 表明接种时接种液从接种孔被挤出, 肝脏成功接种只有 5 只, 另有心脏和肺脏分别感染 1 只和 3 只, 可能是原头节随血流到心脏和肺脏。王慧等^[14]建立了稳定的棘球蚴感染 BALB/c 小鼠动物模型, 接种多房棘球绦虫微囊的小鼠感染模型中, 小鼠腹腔中的包虫囊则不是游离的单囊组织, 而是类似肿瘤组织状的大的团块状结构, 团块组

织上附有丰富的血管生成,与临床表现相吻合,本研究结果与其一致,成功建立了泡球蚴感染的小鼠模型。

但是通过对三地来源的虫株间进行比较,对小鼠的感染率不同,以新疆株感染性最强,提示虫株存在种内的毒力和致病性差异,以及对宿主的易感性差异。目前多数研究主要集中在实验动物的选择上,文献中报道较多的实验动物为老鼠。国内外有不少的研究者选用鼠建立了不同的 AE 动物模型,比如仓鼠、棉鼠、昆明小鼠、新疆塔城地区和布克塞尔县的赤颊黄鼠。另外从动物模型建立的方法和途径即原发感染、继发感染进行讨论。但是未见对于不同地区的虫株感染力比较的报道,本研究发现三个不同地区小鼠的感染率不同,以新疆株感染性最强,提示虫株存在种内的毒力和致病性差异,可能与不同来源地囊液的过敏性及毒性的刺激有关,以及对宿主的易感性差异。

综上所述,本研究成功建立 3 株不同源地的泡球蚴在 BALB/c 小鼠稳定传代保种动物模型,通过对青海、新疆、四川地区的泡球蚴感染情况进行分析,发现新疆株的感染力更强,在包囊和肝脏内检测到原头蚴均以新疆株为多,后续对泡球蚴感染的分子机制研究,可以选取新疆株进行研究。

参考文献

- [1] Reinehr M, Micheloud C, Grimm F, et al. Pathology of Echinococcosis: amorphologic and immunohistochemical study on 138 specimens with focus on the differential diagnosis between cystic and Alveolar Echinococcosis [J]. Am J Surg Pathol, 2020, 44(1): 43 – 54.
- [2] Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas C A, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis [J]. Adv Parasitol, 2017, 95: 315 – 493.
- [3] Craig P S. Epidemiology of human alveolar echinococcosis in China [J]. Parasitol Int, 2006, 55 Suppl: S221 – 5.
- [4] 李润乐, 格日力. 我国包虫病基础研究现状及存在的问题 [J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2017, 38(4): 217 – 8.
- [5] 李 琪. 接种泡状棘球蚴沙鼠体内血清及组织中 VEGF、CD34 的表达 [D]. 石河子: 石河子大学, 2016.
- [6] Tamarozzi F, Casulli A. Cystic and alveolar echinococcosis are two completely different diseases caused by two different species of Echinococcus parasites. comment ON: disseminated cystic echinococcosis of Ferdinando II de' Medici, Grand Duke of Tuscany (1610 – 1670) by Gaeta R, Giuffra V. J infect. 2019 Sep 4 [J]. J Infect, 2020, 80(1): 121 – 42.
- [7] Kern P, Menezes Da Silva A, Akhan O, et al. The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease [J]. Adv Parasitol, 2017, 96: 259 – 69.
- [8] 苏中华, 王冬经, 云旦平措, 等. 西藏地区棘球蚴病流行现状与成因分析 [J]. 甘肃畜牧兽医, 2019, 49(8): 58 – 63.
- [9] 刘 平, 蔡金山, 李金花, 等. 青海省棘球蚴病(包虫病)防控工作调查 [J]. 中国动物保健, 2017, 19(7): 66 – 8.
- [10] 郭永忠, 初依明, 阿尔新·卡德尔, 等. 新疆伊犁地区尼勒克县人群泡球蚴感染病例调查及 nad2、cob 基因片段分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(12): 1066 – 70.
- [11] 李新兰, 牛新玲, 依斯拉音, 等. 我国不同地区多房棘球蚴原头节蛋白组及抗原性的分析 [J]. 地方病通报, 1992, 7(S1): 91 – 6.
- [12] 徐艺玫, 刘 斌, 史 深, 等. 镜检法在腹腔内接种包虫病动物模型中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(9): 58 – 62.
- [13] 廖力夫, 刘 斌, 徐艺玫, 等. 多房棘球蚴不同方法接种灰仓鼠感染效果观察 [J]. 实验动物科学, 2013, 30(1): 22 – 5.
- [14] 王 慧, 李 军, 郭宝平, 等. 微囊法棘球蚴继发感染小鼠动物模型的建立 [J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(9): 784 – 8.

Infectivity of *Echinococcus multilocularis* in mice in different regions of western China

Yang Chenchen^{1,2}, Ma Lei³, Wu Xiran⁴, et al

(¹Dept of Basic Medicine, School of Nursing, Wuxi Taihu University, Wuxi 214600; ²Basic College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054; ³The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063; ⁴Xinjiang International Health-Care Center, Urumqi 830011)

Abstract Objective To establish animal models of *Echinococcus multilocularis* in 3 different regions in western of China, analyze and compare the infectivity of them. **Methods** Forty BALB/c mice were divided into 4 groups: normal control group (n = 10), EM-1 group (Qinghai strain, n = 10), EM-2 group (Xinjiang strain, n = 10) and EM-3 group (Sichuan strain, n = 10). The infection of abdominal cavity was established. The mice were weighed 180 days after inoculation, the infection rate was calculated, the protoscolex was isolated, the livers were fixed with 4% paraformaldehyde, HE staining was also used. The average number of protoscolex was calculated and blood was

妊娠期糖尿病患者来源的胎盘外泌体 对内皮细胞血管功能的影响

张艳赏¹, 李 丽¹, 霍 琰¹, 崔京娜¹, 李桂平²

摘要 **目的** 探讨妊娠期糖尿病(GDM)患者来源的胎盘外泌体对血管内皮细胞的增殖、侵袭、迁移及成管能力的影响。**方法** 联合利用胎盘组织块离体培养及超速离心法获取胎盘外泌体;透射电镜(TEM)、动态光散射(DLS)及Western blot检测进行鉴定;体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),免疫荧光双染后应用荧光共聚焦显微镜检测内皮细胞对外泌体的摄取;利用CCK-8实验和EdU染色法、划痕实验、Transwell侵袭实验和小管形成实验分别检测不同浓度的外泌体对内皮细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成能力的影响。**结果** 成功分离直径范围40~130 nm的胎盘外泌体;分离纯化的胎盘外泌体能够被内皮细胞所摄取,并能够以浓度依赖性促进内皮细胞的增殖、迁移、侵袭及成管能力,即高浓度的胎盘外泌体对内皮细胞的上述功能的促进作用越强。**结论** 来源于GDM患者胎盘组织的外泌体可促进内皮细胞的增殖、迁移、侵袭及成管能力。

关键词 妊娠期糖尿病;胎盘外泌体;内皮细胞

中图分类号 R 344

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)02-0214-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.009

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)指妊娠期发生或首次发现的糖耐量异常,包括一部分在妊娠前已患有糖尿病但孕期首次被诊断的患者,是常见的妊娠并发症之一^[1]。GDM不仅会增加胎儿并发症,如巨大儿、新生儿低血糖、高胆红素血症等的发生率,还会增加孕妇罹患心血管疾病和2型糖尿病的风险,严重危害母婴健康^[2-3]。然而,迄今为止GDM的发病机制尚不明确。胎盘作为连接母体与胎儿的重要器官,其通过气体交换、营养供给及代谢废物排出等功能对妊娠的维持发挥关键作用^[4]。既往研究证实GDM患者胎盘较正常胎盘明显增大,胎盘毛细血管表面积增加,毛细血管增生且内皮细胞的增殖活性显著升高^[5]。外泌体是由双层磷脂分子包裹的囊泡样小体,直径为30~150 nm,其能够通过独特的分子结构实现多种功能,如细胞间信息交换^[6]。而细胞间的信号传递对于胎盘组织中各种细胞正常功能的发挥尤为重要^[7]。因此,外泌体可能参与了GDM的病理生理学机制。

2020-08-14 接收

基金项目:河北省医学科学研究重点科学计划(编号:20181481)

作者单位:¹ 河北省人民医院产科,石家庄 050051

² 河北医科大学基础医学院,石家庄 050017

作者简介:张艳赏,女,副主任医师;

李 丽,女,副主任医师,责任作者, E-mail: siyihuanh@163.com

taken from the angular vein at 7 days, 1 month, 3 months, and 6 months, respectively, and the contents of transferase (AST), alanine transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), eosinophils (EOS) and leukocytes (WBC), red blood cells (RBC), platelets (PLT) were tested. **Results** In this study, three mouse models of abdominal cavity infection from different regions were successfully established. There were no differences in blood routine and liver function index of BALB/c mice from 3 different regions. Among them, EM-2 (Xinjiang strain) group had the most protoscolex. EM-3 (Sichuan strain) had the least number of protoscolex. The EM-2 group had the highest infection rate(77.8%), and the EM-3 infection rate was the lowest(62.5%). After HE staining for the liver tissues of 3 groups of mice, vesicles of varying sizes could be seen in the liver tissues of the experimental groups under low power microscope. The Xinjiang strain infected mice could be observed serious liver cell necrosis, and the area of liver necrosis was large. **Conclusion** The animal models of infection in abdominal cavity of different regions have been successfully established. Pathogenicity of Echinococcus multicolaris in different regions of mice are different. The Xinjiang strain has the most serious infectivity and the Sichuan strain has the least infectivity.

Key words alveolar echinococcosis; protoscolex; abdominal cavity infection; Xinjiang strain; Qinghai strain; Sichuan strain