

# 免疫缺陷模型动物及其在生物医学研究的应用

郑子修 钟金颜

(江西省科学院微生物研究所 南昌 330029)

**关键词** 免疫缺陷,模型动物,生物医学研究

免疫缺陷型动物 (Immunodeficient type animal), 是一类突变种纯系动物, 属于纯品系动物的另一类别。是指正常染色体上的基因发生突变后所产生的突变基因特定的遗传缺陷和遗传形质, 并保持独立品系特征的新品系, 也称突变品系 (Mutant strains)<sup>[2]</sup>。

## 1 免疫缺陷型动物——裸鼠(nu/nu)

早在 1966 年 Flanagan 首次发现一种无毛突变型小鼠后, 1968 年 Pantelouris 相继证

实了这种突变型小鼠不仅体表无毛而且缺少胸腺的事实<sup>[1]</sup>, 推断这种免疫机能缺损小鼠将成为生物医学研究理想的实验材料, 引起了生物医学界的广泛重视, 从此揭开了免疫缺陷动物研究的序幕。裸鼠(Nude mouse)是一种先天性无胸腺的免疫缺陷自发突变小鼠。在遗传上是由于染色体第 VII 连锁群内裸体位点的等位基因发生突变而形成的突变小鼠新品系。裸鼠的唯一特性是胸腺缺陷表现型(Thymus-deficient phenotype)。现代免疫学的发展揭示了胸腺为

中枢免疫器官。它不仅负责T细胞的发育和成熟,对免疫系统的总体控制和维护也十分重要。正常胸腺组织可分泌数种具有生物活性的多肽类物质称为胸腺素(肽)Thymosin,它可刺激淋巴组织产生淋巴细胞,使来自骨髓,脾脏和其它组织的淋巴原始细胞成熟为具有细胞免疫活性的T淋巴细胞,而发挥细胞免疫作用。裸鼠无胸腺,因此致T淋巴细胞生成障碍,由此引起严重免疫缺乏状态。有实验证明注射狂犬活疫苗的有胸腺小鼠,可以产生良好的免疫力而能呈现免疫学检测反应。在无胸腺裸鼠上则未能产生可检出的免疫学反应。裸鼠T淋巴细胞缺损表现为脾细胞失去细胞膜表面的 $\theta$ (theta)抗原和丧失对有丝分裂刺激物(PHA; ConA)的反应能力。这是研究胸腺功能最适宜的动物模型。由于裸鼠nu基因独特的遗传特性,通过科学家的努力目前已能将nu基因顺利导入不同近交系动物。由于具有不同遗传背景和nu基因的遗传特性相结合而形成的系列动物模型称为近交系裸鼠(Inbred nude mouse)。据1985年资料,国际上已先后育成具有不同免疫缺陷特征的近交系裸鼠模型达50余种,其中主要是以BALB/C近交系为遗传背景的裸鼠<sup>[5,12,13]</sup>。

## 2 免疫缺陷动物对生物医学研究的应用

近20年来无胸腺裸鼠作为新型的模型动物在实验肿瘤学,免疫生物学,分子遗传学和组织移植免疫等重要研究领域作出了富有成效的贡献。对于药品、生物制品的安全性评价以及有效药物的筛选试验也有着特殊的应用价值。是一类具有巨大潜在试验价值的模型动物。

### 2.1 实验肿瘤学与移植免疫学研究

裸鼠的发现及其生物学特征—先天细胞免疫功能缺陷,为异种组织移植提供了可能和实用材料。因此可作为移植人类恶性肿瘤的天然受体。有利于构建人体肿瘤—裸鼠移植模型。自1969年Rygaard首次将人结肠癌移植裸鼠获得成功以来,目前世界上已相继构建近210余种人体肿瘤细胞或人体原发癌移植于裸鼠获得成功。近20年间、我国先后对人体结肠癌,直肠癌,食道

癌,乳腺癌,宫颈癌、咽癌,骨巨噬细胞癌的裸小鼠移植均获得成功。系统构建人体肿瘤—裸鼠移植模型,有效促进了肿瘤发生,发展机理和预防治疗的研究,这是当前基础医学研究的重要课题。

早在1953年英国Rowett研究所首次发现无毛裸大鼠以后,相继于1978年英国Festing首次对无胸腺裸大鼠(rnu)进行了全面的实验描述和人癌异种移植试验。分别将人结肠癌和小鼠浆细胞瘤构建肿瘤—裸大鼠移植模型。裸大鼠人癌移植方式有皮下接种和肾内、脑内、肌肉内接种。实验报道可生长于裸大鼠的移植人癌有恶性皮肤黑色素瘤,恶性神经胶质瘤,结肠癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、宫颈癌。但大多数人癌移植后由于产生自发性消退而中断,仅有少数种类的瘤体能呈进行性生长。我国上海中山医院于1985—1986年在建立人肝癌—裸小鼠移植模型的基础上,通过取材于裸小鼠人肝癌组织模型,对裸大鼠皮下组织移植试验,首次成功地构建了人肝癌组织—裸大鼠移植模型LTNR<sub>1</sub>和LTNR<sub>2</sub><sup>[4]</sup>。通过病理形态,宿主血清学和癌胚抗原(AFP)检验得到证实。模型动物不仅保留了人肝癌形态及功能特征,而且保持有裸小鼠人肝癌模型的某些优点。移植肿瘤的细胞形态,染色体组成和同工酶水平的检测均得到与人体肿瘤一致的结果。表明移植成功的肿瘤组织并未发生细胞选择和细胞杂交现象。细胞动力学和生物化学特征也未发生改变。高度证明了应用无胸腺裸大鼠异种移植人体肿瘤的可靠性和复制性,不失为当代实验肿瘤学和移植免疫学研究的无价之宝<sup>[1,9,13,14]</sup>。

### 2.2 肿瘤化疗和抗癌新药的研究

鉴于人体肿瘤移植于免疫缺陷动物均能保持其原有生物学特性,对于研究人体肿瘤对药物的敏感性和实验性治疗提供了可靠的应用前景。试验表明,无胸腺裸鼠肿瘤模型对化疗药物的敏感性与人临床所见十分相似。人Burkitt淋巴瘤裸鼠移植体对环磷酰胺的高度敏感性与人临床完全相符的结果就是其中的例证。近年来科

学家采用将人癌组织移植入裸鼠的肾囊膜内进行化疗药物药效研究,可以在直视显微镜下观测比较肿瘤的生长,大小和瘤体直径比率的变化,取得了在 11 天有效期内正确评价药物疗效的结果。这标志着人类肿瘤-裸鼠移植模型在肿瘤化疗和新化疗药物筛选中的潜在价值。对于建立更适宜的实验动物模型和采用更合理的临床剂量已成为肿瘤化疗研究中亟待深入探讨的二个方面。在评价 Tamoxifen 药物对妇女乳腺癌和子宫内膜癌的疗效试验时,将二种癌同时移植于同一裸鼠体内进行在体 (in Vivo) 试验。这样有利于排除药物在不同宿主体内因代谢不同而造成疗效的差异。在评价 Giavazzi 对妇女卵巢癌的化疗研究中,采用腹腔内移植模型。这样更接近临床晚期肿瘤病人常伴有腹腔内广泛转移的实际。随着试验研究的深入,常位移植途径将越来越受到信赖和重视。在评价新抗癌药物 4-ipomeanol 时,采用了将人肺癌经支气管移植于裸鼠肺内,并与其皮下移植模型相比较。结果对皮下移植的人肺癌无抗癌活性,而在肺部常位移植模型中却显示明显的抗肿瘤疗效,而且延长宿主的生存期。这些都实际的反映出进一步探索更适宜,更接近临床实际的化疗实验模型的重要价值<sup>[7,13]</sup>。

**2.3 遗传病和免疫缺陷病研究** 随着当代医学遗传学向分子水平发展,现已发现 40 余种人类免疫缺陷病与遗传因素有直接关系。长期以来,由于缺乏与人类免疫缺陷性疾病相应的自发性实验动物病理模型,因而对疾病的发生,发展和遗传规律的研究受到极大限制。鉴于先天性无胸腺裸鼠的遗传因素,免疫缺陷动物原缺陷指标及剖检,组织学观测等特征均与人类免疫缺陷性疾病中的原发性细胞免疫缺陷病极为相似,提供了研究人类各种免疫缺陷型疾病的发病机理和遗传规律的良好模型。研究表明。在伴有免疫功能缺陷的 30 余种单基因遗传突变小鼠品系中,对不同染色体上(包括性染色体和 13 个常染色体)突变基因定位检查,其中有三个不同的基因位点突变引起的免疫系统功能严重缺陷,呈常染色体隐性遗传。

**2.3.1** 位于 11 号染色体上的裸体基因突变,使胸腺间质细胞不表达 II 型组织相容性抗原和其它抗原,从而不能与淋巴细胞前体相互作用;

**2.3.2** 发生在 16 号染色体近着丝点端的突变,导致严重联合免疫缺陷 (Combined immunodeficient),造成 T 细胞和 B 细胞抗原特异性受体基因的重组缺陷;

**2.3.3** 6 号染色体突变产生的 motheaten 和可存活性 motheaten,分别存活 3 周和 9 周,为严重免疫缺陷和生命早期发生自家免疫性疾病。T、B 和 NK 细胞功能不全,伴有血清 Ig 水平明显增高和表达多发性自身抗体。随着对免疫缺陷动物实验研究和应用实践的深化,对于明确免疫缺陷动物突变基因产物将成为可能。这对阐明机体免疫系统的发育生物学和细胞,分子生物学具有重要意义<sup>[4,9,13]</sup>。

**2.4 传染性疾病的免疫生物学研究** 近年来,应用无胸腺裸鼠测定乙型肝炎病毒表面抗原 (HB<sub>s</sub>Ag) 的 T 淋巴细胞依赖性的研究收到良好效果。当接种相同或高剂量 HB<sub>s</sub>Ag 时,具有纯合基因 nu/nu 的裸小鼠所产生的抗体,远低于免疫功能正常小鼠。表明非特异性免疫缺陷可以造成对乙型肝炎疫苗的无反应。同时证明了 HB<sub>s</sub>Ag 是一种胸腺依赖性抗原 (T<sub>D</sub> 抗原)。免疫应答 (Immune response) 是涉及到受体本身免疫系统因素和抗原性质二方面因素的复杂过程。依据抗原在免疫应答过程中是否需要 T 细胞的辅助,可以分为胸腺依赖性抗原和非胸腺依赖性抗原。应用 T 细胞免疫缺陷小鼠模型试验证明,白喉和破伤风毒素这二种类毒素均属于胸腺依赖性抗原。在 T 细胞缺乏情况下,不能发挥其免疫作用,因而也不能使 T 细胞缺陷小鼠产生抗体。从而进一步证明了 T 细胞和 B 细胞在体内免疫过程中的相互协同作用。乙型脑炎病毒 SA<sub>14</sub>-14ZHK7 减毒株在正常小鼠体内能产生符合规定的免疫原性,而在无胸腺裸鼠上则不易产生这种免疫原性,必需加大有效免疫剂量达正常小鼠的 40 倍,才能达到同等免疫力,表明乙型脑炎病毒感染产生的免疫力属于细胞免疫型。这对于现场人群应用中产生

抗体水平低下者,可作为预示患者T细胞功能缺损可能的指标。

1975年 Colston 将麻风杆菌接种裸鼠足掌,得到大量增殖并引起全身性扩散。成功建立了裸鼠麻风足垫模型。表明无胸腺裸鼠对麻风杆菌的高度易感性,并能传代,具有模型再现性。这是继1971年 Kirehheimer 报道在一种九带犰狳 (*Dasybus novamacinctus*) 动物上作为唯一复制人类麻风病感染模型以来的一次重大突破。不仅解决了长期以来人类麻风杆菌缺乏简易有效的感染模型,而且为研究人类麻风病生物学和免疫学及其发生、发展机理开拓了极为有效的实验模型。近几年间国际上利用人体组织-裸鼠移植模型,开展皮肤病学领域的研究也取得大量可喜成绩。由于裸小鼠对新型隐球菌的高度易感性,Craybill 等1978年在BALB/c 和 Swiss 裸小鼠上成功建立了新型隐球菌致死性感染试验。通过对裸小鼠实验性隐球菌病组织病理学分析,证实细胞免疫在隐球菌感染中的作用。提示了无胸腺裸鼠是研究宿主抗真菌感染防御机理的良好实验材料。1973年 Manning 在 BALB/c 系裸小鼠上成功建立了人全层包皮和其它种类皮肤移植并得到终身存活的结果。Krueger 1975年成功地将银屑病患者皮肤和正常人体皮肤移植到裸鼠身上,移植后两者在宏观上未见任何区别,直至病变痊愈也未出现排斥现象。而银屑病皮肤移植后,仍能保持供体组织的原有形态学和组织学特征。由此表明无胸腺裸鼠仍不失为人类皮肤病活体研究和对于人体正常皮肤表皮细胞动力学以及皮肤生理结构和皮肤毒理学研究的最适实验材料<sup>[6,10]</sup>。

### 3 新型免疫缺陷模型的开拓

随着对免疫缺陷型动物实验研究的不断深入,近20年来,在生物医学研究的各个领域得到广泛应用。大大推动了实验动物科学的发展与进程。当今的发展形势对于免疫缺陷型动物已经由原来的先天性遗传突变产物进而推移到利用人工方法构建免疫系统一种或多种组成

分缺陷的模型动物。免疫缺陷型动物品系的培育也从原来仅有的啮齿类动物逐步扩展到牛、马等大型哺乳动物。当前在啮齿类的免疫缺陷动物中已从原来的单一T淋巴细胞免疫缺陷型发展到T细胞和B细胞,T细胞和NK细胞以及T、B淋巴细胞和NK细胞的联合免疫缺陷型。为了进一步开拓本国资源,培养更多具有不同遗传背景和生物学特性的免疫缺陷型动物,我国1979—1985年间利用国内615品系小鼠成功培育成一个新型的T淋巴细胞免疫缺陷型导入系——615裸鼠(615/PBI-nu)。这一新型突变品系裸鼠较目前世界上常用的BALB/c品系裸鼠具有稳定性好、繁殖率高、并便于管理等多重优点。在此基础上孙靖等1988年报道<sup>[9]</sup>把分别具有bg和nu两种非等位基因的小鼠,即自然杀伤细胞功能缺陷小鼠( $C_{57}BL/6J-bg$ )为受体和胸腺依赖淋巴细胞功能缺陷小鼠( $C_{57}BL/6J-nu$ )为供体,通过杂交-互交系统的繁殖技术,将Nude小鼠的nu基因导入具有相同遗传背景的Beige小鼠。在国内首次育成NK细胞和T细胞联合免疫缺陷型小鼠Bseige/nude (Combined immunodeficient beige/nude mouse)简称Beige裸鼠。其遗传特性、表型特征、病理生理等方面均具有NK细胞与T细胞免疫功能联合缺陷特性。就不同免疫缺陷小鼠脾细胞对yac-1自然杀伤细胞活性和Con-A诱导淋巴细胞转化试验结果表明,beige裸鼠保持NK细胞和T淋巴细胞功能缺陷特性达到国际报道水平。这是我国最早培育成功的联合免疫缺陷型动物。成为人体免疫机理和免疫监控研究的重要实验材料。尤其对研究人类肿瘤对药物敏感性以及对于肿瘤转移因素,人癌浸润转移调控机理的研究,抗癌药物的筛选试验提供了十分重要的实验模型。关汝明等报道<sup>[2]</sup>,利用我国自己培育的T淋巴细胞缺陷型(nu),NK细胞缺陷型(bg),以及T和NK细胞联合缺陷型(nu/bg)的不同免疫缺陷型615系小鼠(615-nu;615-bg;615-nu/bg)。对转输正常脾细胞诱导受体鼠产生免疫子效应的机理和瘤苗自动免疫的免疫细胞基础的研究,获得

了比较一致的规律性结果。结果表明,传输正常脾细胞(T或/和NK细胞)诱导受体鼠产生免疫预防效应,主要是通过刺激机体免疫系统实现的。T细胞在实现这一效应中发挥了介导细胞或效应细胞的作用。经过近20年来的研究,几乎所有类型的人类肿瘤在免疫缺陷动物体内建立了移植模型。该领域的研究也从单纯观察肿瘤可移植性,形态和组织学特征,转而对致癌机理,移植瘤的细胞遗传学和分子遗传学,肿瘤产物和建立更接近于患者临床状态的模拟,以及肿瘤与宿主的相互作用等研究领域,并取得了可喜进展。从利用自发突变的先天性免疫缺陷发展到人工重组、双重乃至多重后天获得性免疫缺陷动物的研究历程,进一步标志着实验动物科学在生命科学研究中的重要价值与贡献。

### 参 考 文 献

- 1 马曾辰. 裸大鼠及人癌移植研究进展. 上海实验动物科学, 1987, 7(4): 215—217.
- 2 关汝明, 钱振超, 孙靖. 用免疫缺陷型小鼠研究 L<sub>1</sub> 瘤株的继承性免疫和瘤苗免疫原理. 上海实验动物科学, 1989, 9(2): 73—75.
- 3 郑子修, 钟金颜. 实验动物标准化与生命科学. 江西科学, 1991, 9(2): 122—128.
- 4 孙靖, 许全明, 汪宝平等. T和NK细胞联合免疫缺陷型 beige/nude 小鼠的育成及其主要特征. 上海实验动物科学, 1988, 8(1): 4—7.
- 5 黄念君. 无胸腺裸鼠的发现及应用. 国外医学(生物制品), 1979, 4: 6—9.
- 6 Fogh J. B. C. Giovanella. In Fogh J. (Ed). The nude mouse in experimental and clinical research. Academic Press, New York, 1978, 485.
- 7 Giovanella B. C. In Sordat B. (Ed). Immuno-deficient animal. Academic Press, Basel, Karger, 1984, 76.
- 8 Jie Zheng. The 6th international workshop on immunodeficient animal in biomedical research. Beijing, (Abstract), 1988.
- 9 Ma Z. C. Shanghai international symposium on liver cancer and hepatitis. Shaoghai, China, 1986, 99.
- 10 Maibach L. Models in dermatology. Basel, Karger, 1985, 228.
- 11 Pantelouvis E. M. Absence of thymus in a mouse mutant. Nature, 1968, 217: 370—371.
- 12 Salomon J. C. J. Fogh 1982 In Fogh J. (Ed). The nude mouse in experimental and clinical research. New York, Academic Press, 1982, 229.
- 13 Salomon J. C. In Sparrow S. (Ed), Immuno-deficient animal for cancer research. New York, Macmillan, 1980, 105.
- 14 Williams K. D. In Sordat B. (Ed), Immuno-deficient animal. Academic Press, Basel, Karger, 1984, 80.