

眼科新进展系列丛书

丛书主编：Arun D. Singh

# 眼科疾病的动物模型

## Animal Models of Ophthalmic Diseases

主编 陈之昭 (Chi-Chao Chan)

主译 陈大年 魏 来



人民卫生出版社  
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

眼科新进展系列丛书

丛书主编: Arun D. Singh

# 眼科疾病的动物模型

Animal Models of Ophthalmic Diseases

主 编 陈之昭 (Chi-Chao Chan)

美国国立卫生研究院国家眼科研究所

中国中山大学中山眼科中心

主 译 陈大年 四川大学华西医院眼科研究室

魏 来 中山大学中山眼科中心

译 者 (按姓氏笔画排序)

王钰娇 四川大学华西医院眼科研究室

韦佳如 中山大学中山眼科中心

文小凤 中山大学中山眼科中心

孔虹雨 四川大学华西医院眼科研究室

李 雁 中山大学中山眼科中心

肖丽容 四川大学华西医院眼科研究室

邹嫣丽 中山大学中山眼科中心

陈大年 四川大学华西医院眼科研究室

苗 理 中山大学中山眼科中心

赵 静 中山大学中山眼科中心

高静歌 四川大学华西医院眼科研究室

葛小菲 中山大学中山眼科中心

魏 来 中山大学中山眼科中心

人民卫生出版社

Translation from the English language edition:  
Animal Models of Ophthalmic Diseases by Chi-Chao Chan  
Copyright© Springer International Publishing Switzerland 2016  
Springer International Publishing AG Switzerland is a part of Springer Science+Business Media  
All Rights Reserved

### 图书在版编目 (CIP) 数据

眼科疾病的动物模型/(美) 陈之昭主编; 陈大年,  
魏来译. —北京: 人民卫生出版社, 2016

ISBN 978-7-117-23683-6

I. ①眼… II. ①陈…②陈…③魏… III. ①眼病-  
医用实验动物-试验模型 IV. ①R771-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 270541 号

人卫智网	<a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	<a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	人卫官方资讯发布平台

版权所有,侵权必究!

图字:01-2017-2915

### 眼科疾病的动物模型

主 译: 陈大年 魏 来

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京盛通印刷股份有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 9

字 数: 213 千字

版 次: 2017 年 5 月第 1 版 2017 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-23683-6/R·23684

定 价: 78.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

## 眼科新进展系列丛书

丛书主编: **Arun D. Singh** (Cleveland, Ohio, USA)

出版“眼科新进展系列丛书”的目的,是促进医学研究最新成果快速有效地转化为临床实践。每年出版4册,覆盖临床眼科学的所有领域,包括新进展和新发明。它们将为临床医生提供了一个了解最新研究进展及其对临床实践的影响的窗口。每一分册都关注一个临床问题,并对研究结果如何影响临床诊断、治疗和患者管理进行阐述。这些分册都由国际上该领域的知名专家撰写,易于阅读,结构清晰,包括核心内容、小结、图表及示意图。分册主编指导作者的撰写,保证为临床眼科医生提供最新、最有用的知识。所有章节都通过了编委会的同行专家评审。

关于本系列丛书的更多信息,请访问 <http://www.springer.com/series/5332>。

---

# Contributors

**Mary E. Aronow** Clinical Branch, National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Rebecca S. Bahn** Mayo Clinic College of Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

**J. Paul Banga** The Rayne Institute, King's College London, London, UK

Universitäts-Augenklinik, Gruppe für Molekulare Ophthalmologie, Medizinisches Forschungszentrum, Universität Duisburg-Essen, Essen, Germany

**Utta Berchner-Pfannschmidt** Universitäts-Augenklinik, Gruppe für Molekulare Ophthalmologie, Medizinisches Forschungszentrum, Universität Duisburg-Essen, Essen, Germany

**Scott Bowman** Department of Pathology and Molecular Medicine, McMaster University, Hamilton, ON, Canada

**Jinfeng Cao** Department of Ophthalmology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

**Kate L. Carroll** Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

Department of Ophthalmology, and Graduate Training Program in Molecular Virology and Microbiology, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

**Rachel R. Caspi** Laboratory of Immunology, National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Nathalie Cassoux** Département d'oncologie chirurgicale, Institut and Laboratory of preclinical investigation, Department of Translational Research, Institut Curie, Paris, France

**Chi-Chao Chan** National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China

**Bo Chang** The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA

**Mei Chen** Centre for Experimental Medicine, Queen's University Belfast, Northern Ireland, UK

**Emily Y. Chew** Division of Epidemiology and Clinical Applications, National Eye Institute/National Institutes of Health, Clinical Trials Branch, Bethesda, MD, USA

**Sarah E. Coupland** Pathology, Department of Molecular and Clinical Cancer Medicine, Institute of Translational Research, University of Liverpool, Liverpool, UK

**Nadine E. de Waard** Department of Ophthalmology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

**Didier Decaudin** Laboratory of Preclinical Investigation, Translational Research Department, Institut Curie, Paris, France

**Raymond S. Douglas** Kellogg Eye Center, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

**Anja Eckstein** Universitäts-Augenklinik, Gruppe für Molekulare Ophthalmologie, Medizinisches Forschungszentrum, Universität Duisburg-Essen, Essen, Germany

**Charles E. Egwuagu** Molecular Immunology Section, Laboratory of Immunology, National Eye Institute, National Institutes of Health (NIH), Bethesda, USA

**Shivani Gupta** Kellogg Eye Center, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

**Robert L. Hendricks** Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

Department of Immunology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

Department of Microbiology and Molecular Genetics, and Graduate Training Program in Molecular Virology and Microbiology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

**Edward J. Holland** Cornea Services, Cincinnati Eye Institute, University of Cincinnati, Union, Kentucky, USA

**Martine J. Jager** Department of Ophthalmology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

**Thomas V. Johnson** Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins Hospital, Baltimore, MD, USA

**Helen Kalirai** Pathology, Department of Molecular and Clinical Cancer Medicine, Institute of Translational Research, University of Liverpool, Liverpool, UK

**Jennifer L. Kielczewski** Laboratory of Immunology, National Eye Institute at National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Yizhi Liu** State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China

**Noemi Lois** Department of Ophthalmology, Queen's University, Belfast, UK

**Sheldon Miller** National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**John C. Morrison** Casey Eye Institute, Oregon Health and Science University, Portland, USA

**Sajad Moshkelgosha** The Rayne Institute, King's College London, London, UK

Universitäts-Augenklinik, Gruppe für Molekulare Ophthalmologie, Medizinisches Forschungszentrum, Universität Duisburg-Essen, Essen, Germany

**Rohini M. Nair** School of Medical Sciences, University of Hyderabad, Hyderabad, India

**Robert Nussenblatt** Laboratory of Immunology, National Eye Institute at National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Alexander M. Rowe** Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

**Florian Sennlaub** Inserm, U 968, UPMC University Paris 06, Paris, France  
UMR\_S 968, Institut de la Vision, UPMC University Paris 06, Paris, France  
INSERM-DHOS CIC 503, Centre Hospitalier National d'Ophthalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France

**Paul A. Sieving** National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Arun D. Singh** Department of Ophthalmic Oncology, Cole Eye Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA

**Alan Stitt** Centre for Experimental Medicine, Queen's University Belfast, Northern Ireland, UK

**Stanislav I. Tomarev** Section on Retinal Ganglion Cell Biology, Laboratory of Retinal Cell and Molecular Biology, National Eye Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

**Wietske van der Ent** Institute of Biology, Department of Pathology, Leiden University Medical Center, Leiden University, Leiden, The Netherlands

**Judith West-Mays** Department of Pathology and Molecular Medicine, McMaster University, Hamilton, ON, Canada

**Wai T. Wong** Unit on Neuron-Glia Interactions in Retinal Disease, National Eye Institute, Bethesda, MD, USA

**Hua Yang** Department of Ophthalmology, School of Medicine, Emory University, Atlanta, Georgia, USA

**Hongmin Yun** Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA

---

# 序

长期以来,疾病的治疗和最终治愈方面的发展与基础科学(或称为“纯科学”)和“应用科学”(临床或转化科学)的关系密不可分。这种关系至少可以追溯到亚里士多德时代,并且被许多对科学有着不同思考方式的观点所推动着。一种观点认为“纯”科学和“应用科学”分属不同类别,基础科学是主要的,并且是有别于由它长期孕育而生的应用科学(Stokes, 1997)。然而,有许多例子表明,这种关系不一定是单向的或长期的;这本《眼科疾病的实验动物模型》就是其中的一个例子。本书中你所看到的便是21世纪生物学(如基因组学)以及它们的临床转化应用飞速发展的结果。这项工作开展的主要目的是为了在全球范围内减少一些重大视觉系统疾病。这些临床前模型的基础生物学涉及遗传学、表观遗传学、炎症、衰老和神经退行性疾病等领域的重大发现。值得一提的是,临床前模型是基于大量的对疾病的临床研究结果和对其临床表现的分析而建立的,然而实际研究中往往没有与临床表现完全一致的动物模型。随着工程、物理、信息学技术和理论的飞速发展以及它们之间的相互整合,使得临床研究也进入到了一个高速发展的时代,正如最近所设想的精准(个性化)医学。这些都得益于目前已处于高速发展的计算能力、计算速度以及软件的设计和开发。CRISPR/Cas9系统就是快速发展的生物工程中的一个突出例子。在过去的十年里,这一系统被广泛推广使用,并且相对于20世纪90年代所研究的大肠埃希菌及其他微生物基因组重复序列系统,CRISPR/Cas9系统处于绝对领先地位(Hsu, et al, Cell, 2014)。正如相关专家的看法,CRISPR/Cas9系统改变了转基因技术的使用,加上基于模仿人体疾病模型的胚胎干细胞和诱导多能干细胞的相关研究,都给视觉系统疾病的治疗带来希望(Zhong H, et al, Sci Rep, 2015)。目前,以细胞为基



础,建立“培养皿中的人类疾病”的模型对疾病的分析与鉴定有着重要的影响,同时也有助于利用高通量测序技术来研究开发治病的小分子药物。本书所介绍的内容结合 21 世纪飞速发展的科学研究和临床进展将会为眼科疾病的防治带来新的曙光。

**Sheldon Miller** 博士  
美国国立眼科研究所

## 参考文献

- Hsu PD, Lander ES, Zhang F (2014) Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 157(6):1262–78
- Zhong H, Chen Y, Li Y, Chen R, Mardon G (2015) CRISPR-engineered mosaicism rapidly reveals that loss of *Kcnj13* function in mice mimics human disease phenotypes. *Sci Rep* 5:8366

(邹嫣丽 译,魏来 校)

# 前言

当研究人类疾病时,希望通过疾病模型能够更好地理解它的发病过程而不额外地增加对人的伤害。正如其他形式的医学研究,眼科学和视觉科学相关的研究也集中在调查疾病的发病机制和通过体外、体内的方法发现新的治疗方法上。体内药物筛查研究采用的动物模型包括脊椎动物(斑马鱼、啮齿动物、兔子和灵长类动物)和无脊椎动物(果蝇和线虫)。建立合适的实验模型对于识别疾病的风险因子、阐明疾病进展的分子机制,以及确定一项特定的治疗是否可以安全有效地用于人类都是至关重要的。本书是以疾病为导向,展示了常见眼部病变的不同动物模型,包括疱疹性角膜炎、白内障、青光眼、年龄相关性黄斑变性、糖尿病性视网膜病变、葡萄膜炎、Graves 眼病及眼部肿瘤。此外,全球权威的临床医生对每种模型的临床意义都做出了重要评论。

Hendricks、Yun、Rowe 和 Carroll 比较了部分 I 型单纯疱疹病毒性(HSV-1)角膜炎的动物模型,及其与人类病变的关系,并论述了小鼠 I 型单纯疱疹病毒性角膜炎在病理机制上的一些新发现。Edward Holland 说:“从诊断和治疗的角度来看,单纯疱疹病毒性角膜炎是临床医生面临的重大挑战之一。并且,单纯疱疹病毒性角膜炎的动物模型对于理解新型治疗方法的病理生理及其有效性至关重要”。West-Mays 描述了最常用于研究导致白内障形成的遗传及环境危险因子的动物模型,且强调了每种动物模型的优缺点及最新进展。刘奕志称赞到:“尽管动物模型不能完全代表人类白内障的特点,但它们是探索白内障产生机制不可或缺的工具。临床医生和研究人员将发现这个章节是根据不同的研究目的、选择合适的白内障动物模型的一个指南”。Johnson 和 Tomarev 回顾了最重要的啮齿动物青光眼模型,强调了青光眼模型的最新进展,分析了这些模型对于研究人类疾病的优缺点。John Morrison 评论说:“大鼠和小鼠都拥有必要的细胞连接组成视盘,而视盘又是青光眼所特有的主要损伤部位。伴随着这些动物模型的发展,可以通过现代细胞生物学方法,让我们研究

眼压改变诱导的视盘的基因和蛋白质表达变化。这些动物模型最终将会为我们的患者提供一些有效的视神经保护策略”。

Sennlaub 通过年龄相关性黄斑病变 (AMD) 动物模型讨论了可导致视网膜下炎症的危险因素。他进一步概述了动物模型可看作是由“原发性”遗传因素或者“继发性”炎症反应引起的。这些 AMD 的动物模型的应用可以帮助理解视网膜下单核吞噬细胞的积聚在 AMD 中的起源和作用。此外,这些动物模型还可以帮助确定药物靶点能否抑制潜在致病性视网膜下吞噬细胞的积聚或者它们的神经毒性、能否抑制血管生成介质。Wai Wong 相信把视网膜下炎症作为 AMD 发病机制之一的理念是有益的。事实上,不管是体内还是体外都已研发出无数的 AMD 模型。AMD 的动物模型在不同种属都有报道,但主要是小鼠<sup>1,2</sup>。最近,利用控制基因表达新技术,如 CRISPR/Cas9 基因组编辑,已经成功地建立了斑马鱼视网膜色素上皮缺损模型<sup>3</sup>。Emily Chew 认为:“对于我们理解 AMD 的发病机制和检测其可能的治疗来说,建立动物模型来研究人类 AMD 是至关重要的。尽管小鼠没有黄斑结构,在小鼠模型中不能完全复制 AMD 的特点如视网膜色素上皮萎缩,但是动物模型将帮助我们了解 AMD 的病理学的基本过程”。Chen 和 Stitt 揭示了众多的糖尿病视网膜病变 (DR) 的动物模型。他们认为啮齿动物糖尿病模型仍将是最受欢迎的研究糖尿病视网膜病变的动物模型。Noemi Lois 称赞作者道:“他们给我们全面回顾了可用的 DR 动物模型,指出了各自的优缺点”。她建议:“基础科学家和临床医生应怀着以改善 DR 患者生活质量为最终目标,在 DR 研究中共同努力去寻找改善活体模型和评估模型的时间点的方法”。Kielczewski 和 Caspi 介绍了非感染性葡萄膜炎的主要动物模型,包括一些成熟的常用的实验性自身免疫性葡萄膜炎 (EAU) 以及自发的遗传模型和人源化的葡萄膜炎模型。这些模型对于视觉研究人员揭开眼部炎症的复杂性是一个重要工具。鉴于此,Robert Nussenblatt 评论说:“显然地,许多实验操作不能用于人及动物模型,虽然不完美,但为观察者提供了适当的环境来观察和操作。”不过,他也警告说“如何将从动物模型上观察到的现象和人类相关联,是一个艰巨的任务”。

Chang 致力于研究视网膜变性的小鼠模型,具体地说,以使用 *rd10* (*Pde6b*<sup>rd10</sup>) 模型为例,证明了一个视网膜色素变性 (RP) 模型可以用来探索 RP。*rd10* 模型中视网膜生理和病理生理学的研究,已经促成了在分子、细胞和组织水平上对视网膜发育、维护和功能的深入理解。Paul Sieving 评论说:“这个章节全面回顾了许多生物学方法,通过对 *rd10* 小鼠中异常 Pde6b 蛋白质的产生原因和对细胞影响的研究,生物学知识也得以发展……本章还回顾了不同生物策略通过减缓或改善病理生理来挽救视力……尽管如此,尝试治疗人类 RP 的方

法仍然极其有限”。Banga、Moshkelgosha、Berchner-Pfannschmidt 和 Eckstein 描述了小鼠 Graves 眼病(GO)的模型,通过在邻近区域电转染人促甲状腺激素受体(TSHR)胞外段,诱导基因免疫、重现眼眶炎症和脂肪形成。Rebecca Bahn 认为这个 GO 模型和未来由它发展来的动物模型将促成 GO 发病机制相关的新实验方法和新发现。这些体内研究无疑会引领随机临床试验,最终产生更有效的方法来治疗 Graves 病患者。Shivani Gupta 和 Raymond Douglas 认为尽管 GO 动物模型与人类的病变有病理差异,但是这个模型在进一步阐明 GO 的复杂机制方面提供了相当大的帮助。Jager、Cao、Yang、Carita、Kalirai、van der Ent、de Waard、Cassoux、Aronow 和 Coupland 总结了各种眼部恶性肿瘤的模型,包括黑色素瘤、视网膜母细胞瘤和淋巴瘤,强调了可使用的不同种属。Arun Singh 指出动物模型不仅可用于基础研究,也可用于肿瘤测试治疗和肿瘤患者管理上。

总之,这本由眼科学与视觉研究学界国际权威编写的书,对和最常见眼部疾病高度相关的动物模型进行了全面的回顾。世界临床专家基于他们的临床经验给予了这些动物模型积极的评论。最后,我要感谢我接受培训和工作了 33 年的美国国家眼科研究所。也要感谢所有作者,他们中的大多数是我的同事和朋友,他们运用他们的临床和科学经验、知识编写了常见眼部动物模型的章节或者给出了深刻见解。我还要感谢 Nicholas Popp 对本书的编辑及讨论。末了,向我的家人与朋友予以最深的感谢,在编书的过程中,是他们的爱和鼓励极大地帮助了我。

陈之昭医学博士

美国国立卫生研究院国立眼科研究所  
中国中山大学中山眼科中心

## 参考文献

1. Ramkumar HL, Zhang J, Chan CC (2010) Retinal ultrastructure of murine models of dry age-related macular degeneration (AMD). *Prog Ret Eye Res* 29:169-190.
2. Fletcher EL, Jobling AI, Greferath U, Mills SA, Waugh M, Ho T, de Long RU, Phipps JA, Vessey KA (2014) Studying age-related macular degeneration using animal models. *Optom Vis Sci* 91: 878-886
3. Kotani H, Taimatsu K, Ohga R, Ota S, Kuwahara A (2015) Efficient multiple genome modifications induced by the crRNAs, tracrRNA and Cas9 protein complex in zebrafish. *PLoS One* 10(5):e0128319.

(李雁 译,魏来 校)

# 目录

第一章	疱疹病毒性角膜炎的动物模型 .....	1
	Robert L. Hendricks, Hongmin Yun, Alexander M. Rowe and Kate L. Carroll/葛小菲 译,魏来 校 评论 Edward J. Holland	
第二章	白内障的动物模型 .....	10
	Judith West-Mays and Scott Bowman/韦佳如 译,魏来 校 评论 Yizhi Liu	
第三章	青光眼动物模型 .....	28
	Thomas V. Johnson and Stanislav I. Tomarev/肖丽容 译, 陈大年 校 评论 John C. Morrison	
第四章	年龄相关性黄斑变性的动物模型:视网膜下的炎症 反应 .....	47
	Florian Sennlaub/文小凤 译,魏来 校 评论 Emily Y. Chew 评论 Wai T. Wong	
第五章	糖尿病视网膜病变的动物模型 .....	62
	Mei Chen and Alan Stitt/王钰娇 译,陈大年 校 评论 Noemi Lois	
第六章	自身免疫性葡萄膜炎的动物模型 .....	78
	Jennifer L. Kielczewski and Rachel R. Caspi/苗理 译, 魏来 校 评论 Dr. Nussenblatt	

- 第七章 视网膜色素变性(RP)的动物模型 ..... 93  
Bo Chang/孔虹雨 译,陈大年 校  
评论 Paul A. Sieving
- 第八章 Graves 眼眶病变的动物模型 ..... 108  
J. Paul Banga, Sajad Moshkelgosha, Utta Berchner  
Pfannschmidt and Anja Eckstein/赵静 译,魏来 校  
评论 Rebecca S. Bahn  
评论 Shivani Gupta and Raymond S. Douglas
- 第九章 眼部肿瘤的动物模型 ..... 116  
Martine J. Jager, Jinfeng Cao, Hua Yang, Didier Decaudin,  
Helen Kalirai, Wietske van der Ent, Nadine E. de Waard,  
Nathalie Cassoux, Mary E. Aronow, Rohini M. Nair and  
Sarah E. Coupland/高静歌 译,陈大年 校  
评论 Arun D. Singh
- 第十章 结语 ..... 129  
Charles E. Egwuagu/高静歌 译,陈大年 校

# 第一章 疱疹病毒性角膜炎的动物模型

Robert L. Hendricks, Hongmin Yun,  
Alexander M. Rowe and Kate L. Carroll

## 1.1 疱疹病毒性角膜炎简介

单纯疱疹病毒 I 型 (HSV-1) 是一种常见的病原体,血清学检测显示美国 70 岁以下人群中超过半数曾感染过 HSV,这比有些发展中国家的感染率还高 (Xu et al. 2002);而近期基于尸体解剖的研究结果表明,人体三叉神经内 HSV-1 的潜伏性感染率甚至高于上述血清学检测结果 (Hill et al. 2008)。单疱病毒性角膜炎源于 HSV-1 的眼部反复感染。在病人及许多动物模型中,HSV-1 初次感染眼部或面部后可定植于三叉神经节的一些感觉神经元中。在这种原发感染之后病毒

的感染形式可表现为潜伏性感染和复发感染。潜伏性感染期,是指病毒基因组作为神经细胞核中的一种游离 DNA 而存在的一种静止状态,病毒基因组可以以这种状态持续存在,也可能周期性的再活化产生有感染性的病毒颗粒并且通过轴突运输转运回到角膜表面,进而引发复发性的单疱病毒性角膜炎,表现为病毒复制引起的局限性角膜上皮的破坏或基质的免疫病理学损伤。后者也被称为单疱病毒性角膜基质炎 (HSK) 或间质性角膜炎,它反复发生于角膜基质造成的损伤会导致进行性的瘢痕形成,严重的甚至会引起失明。复发性 HSK 已成为美国甚至全世界范围内首位的感染性致盲眼病。

R. L. Hendricks (✉) · H. Yun · A. M. Rowe · K. L. Carroll  
Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of  
Medicine, Pittsburgh, PA 15213, USA  
e-mail: hendricksrr@upmc.edu

R. L. Hendricks  
Department of Immunology, University of Pittsburgh School of  
Medicine, Pittsburgh, PA 15213, USA

R. L. Hendricks  
Department of Microbiology and Molecular Genetics, and Gradu-  
ate Training Program in Molecular Virology and Microbiology,  
University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA  
15213, USA

K. L. Carroll  
Department of Ophthalmology, and Graduate Training Program  
in Molecular Virology and Microbiology, University of Pitts-  
burgh, Pittsburgh, PA, USA

## 1.2 HSV-1 潜伏性感染

HSV-1 潜伏性感染在分子层面可定义为能特异性转录潜伏性相关基因 (LAT) 的游离病毒 DNA 在神经细胞核内的持续存活 (Javier et al. 1988; Stevens et al. 1988)。另一种定义是能够不产生感染性病毒颗粒的游离病毒 DNA 的持续存活 (Gardella et al. 1984)。后一种定义也包含病毒能够间歇性产生少量的有限种类的溶菌性基因产物,而不产生完整病毒,这一观点被越来越多基于小鼠潜伏性

病毒感染的研究数据所证实(Kramer and Cohen 1995;Feldman et al. 2002)。这些发现也揭示了免疫系统可在病毒逃脱潜伏性感染期之前对这些溶菌性基因产物产生应答的可能性,此观点同样被相关实验数据所支持。由于潜伏性感染的 HSV-1 的再活化引起了复发性的单疱病毒性角膜炎,因此它的潜伏性感染和再活化的动物模型是当前研究的热点。研究表明病毒的某些未完全明确的遗传特性决定了其再活化这一事件的可能,例如兔角膜感染 HSV-1 的病毒株 McKrae 和 Syn (+)后,潜伏感染于 TG 的病毒可以自发性地再活化,但这种再活化不会引起复发性的单疱病毒性角膜炎,即便是更加具有神经毒性的上述病毒株一般也不会引起相关角膜炎(Hill et al. 1987b)。相比来说,病毒株 KOS 不会发生这种再活化现象。而即便小鼠角膜感染毒性更强的上述 McKrae 和 Syn (+)病毒株一般也不会产生自发性再活化。然而,角膜局部接受到诱发性信号,如兔眼用肾上腺素(Hill et al. 1987a, 1987b, 1987c; Berman and Hill 1985)、小鼠眼进行紫外照射,上述病毒株的再活化可以大大增加单疱病毒性角膜炎复发的可能性(Stuart and Keadle 2012)。

小鼠模型相关研究数据表明在 HSV-1 的潜伏性感染期,某些病毒源性和宿主源性的 miRNAs 均可以抑制溶菌性基因的表达,在病毒中这些 miRNAs 的编码区多位于 LAT 区(Umbach et al. 2008;Pan et al. 2014)。一项最新研究表明能够调节神经毒性因子  $\gamma$ 34.5 的 siRNAs 或许有助于病毒的潜在感染(Tang et al. 2008)。有趣的是,LAT 区域在小鼠和兔子潜伏性感染时发挥的作用有所不同,LAT 的缺失突变可导致小鼠溶菌性基因表达减少(Leib et al. 1989;Garber et al. 1997),但可大大提高兔子体内这些溶菌性基因的表达(Giordani et al. 2008)。LAT 功能的物种特性能维持兔子体内病毒基因组的高再活化状态,解释了兔子体内潜伏性感

染的病毒能够自发性再活化的原因。近期也有研究揭示了潜伏性感染病毒基因表达在表观遗传学层面的抑制机制(Bloom et al. 2010),一项应用小鼠的感染拦截模型研究证明在潜伏性感染期 LAT 位点有丰富的常染色质相关标志,促进了其基因表达,而溶菌性基因有丰富的异染色质标记,抑制了它的表达。另外,有越来越多的研究证明人和小鼠的病毒潜伏感染 TG 神经细胞的周围聚集了 T 细胞,包括 CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> T 细胞(Rowe et al. 2013)。其中的 CD8<sup>+</sup> T 细胞在体内和体外均可以阻断病毒的再活化,这些 CD8<sup>+</sup> T 细胞有许多表现出活化状态,表现在能够表达溶菌性颗粒组件颗粒酶 B 及 IFN- $\gamma$ (Knickelbein et al. 2008;Liu et al. 2000;Verjans et al. 2007;Theil et al. 2003)。小鼠的 CD8<sup>+</sup> T 细胞可以与神经细胞形成免疫突触并释放溶菌性颗粒(Khanna et al. 2003;Knickelbein et al. 2008),进而可以在不杀死感染的神经细胞的情况下利用 IFN- $\gamma$  和溶菌颗粒来预防 HSV-1 的再活化。这些基于小鼠潜伏性感染研究的发现对一度曾经流行的潜伏性感染的 HSV-1 能被宿主免疫系统所豁免的观点提出质疑,之后许多人提出了另一种更加动态的假说,即潜伏性感染中总有少数神经细胞中的病毒不断地试图再活化,而这种活动大部分能够被 CD8<sup>+</sup> T 细胞所阻断,CD4<sup>+</sup> T 细胞或许也参与了这一过程。

人类与小鼠的一个有趣的不同点是:抑制 HSV-1 感染早期的一种蛋白-ICP47(infected cell protein 47),可大大增加人体内抗原提呈转运蛋白(TAPs)的敏感性。而 TAP 在 CD8<sup>+</sup> T 细胞接受抗原呈递的过程中,可将多肽装载到主要组织相容性抗原 I(MHC I)的表面,这一重要作用提示在人体内受 HSV-1 感染的细胞更易逃过 CD8<sup>+</sup> T 细胞的免疫识别。并且它的这一作用对于仅表达非常低量的 MHC 及病毒蛋白的潜伏性感染的神经细胞或许会更加重要,解释了为何被病毒潜伏



性感染的 TG 在人类的自发性再活化机率远比小鼠的高。但是,也有研究表明病毒潜伏性感染的人类和小鼠神经细胞的周围的 CD8<sup>+</sup> T 细胞表现出了相似的激活表型,这一现象与上述理论似乎相悖。识别 HSV-1 潜伏性感染中这些调节病毒基因表达的相关免疫性和非免疫性机制有助于了解在动物体内相关抑制性的机制是如何调节的。许多环境和生理性的刺激因素,如应激、紫外照射和免疫抑制等与小鼠及人体内病毒的再激活有关。这些刺激因素对病毒再活化发挥作用的一个关键因素是抑制 T 细胞的功能。例如潜伏性感染小鼠的束缚应激状态,能够显著抑制在病毒感染的 TG 神经细胞周围的 CD8<sup>+</sup> T 细胞功能,诱发病毒再活化 (Freeman et al. 2007)。另外在潜伏性感染的 TG 内,CD8<sup>+</sup> T 细胞持续暴露于 HSV 抗原会导致 T 细胞耗竭,表现为某些 T 细胞相关功能的缺失、病毒再活化时 CD8<sup>+</sup> T 细胞的保护性反应降低 (Jeon et al. 2013; St Leger et al. 2013)。这些发现表明神经节发生病毒潜伏性感染时,通过提高 CD8<sup>+</sup> T 细胞的数量和功能或许可以有效降低疱疹病毒感染性疾病的复发几率。由于 HSV 特异性的 CD8<sup>+</sup> T 细胞在控制病毒感染过程中发挥了重要作用,可以假设以 CD8<sup>+</sup> T 细胞为靶目标的病毒抗原疫苗或许可以有助于预防 HSV-1 的再活化。一个使用了潜伏性感染 TG 小鼠的在体研究支持这一假设 (Hoshino et al. 2007)。但是,一项最近的研究提醒说那些过继传输的 HSV 特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞(模拟接种的效果)在病毒潜伏性感染建立的时候就已经被全部清除出 TG,并且在之后的病毒再活化时也是如此 (Himmelein et al. 2011)。这些研究表明仅仅通过接种疫苗来提高循环中具有病毒特异性免疫的 CD8<sup>+</sup> T 细胞数量和频率或许不能提高潜伏性感染 TG 区域的 CD8<sup>+</sup> T 细胞数量,因此需要更进一步的研究策略,如能使潜伏性感染 TG 内表达相关趋化因子的亲神经性

病毒载体的应用或许可以帮助接种细胞到达指定部位。

### 1.3 单疱病毒性角膜炎

不幸的是,HSV-1 可以逃脱许多人体内抑制病毒表达的重要机制而频繁地再活化,并散布到角膜表面。这种再活化和散布导致的后果在不同个体的表现差别很大。在有些个体,病毒可以散落于泪膜而毫无症状 (Kaufman et al. 2005)。而在另一些个体,病毒的再活化和散落可以导致局限于角膜上皮的反复损伤,称为上皮型单纯疱疹病毒性角膜炎 (Darougar et al. 1985)。其损伤主要源于病毒的复制和对细胞的直接破坏,因而表现为典型性的角膜上皮的树枝状或者地图样损伤。还有一些个体,病毒的再活化和散落可以导致反复的 HSK 或者角膜基质炎发作。HSK 病理表现为伴随或不伴随上皮坏死的轻度至重度的角膜基质的炎症,分别叫做坏死性或者免疫性 HSK。这一病毒引起的角膜病理形态的多样性反映了病毒和宿主的遗传因素的综合效应。这些所谓的“方形遗传学”(“genetics squared”)效应很难应用远交系的兔子进行研究,但在一定程度上可应用小鼠模型,因不同 HSV-1 毒株会引起不同近交系的小鼠发生不同水平的角膜疾病。例如, KOS 毒株在初发感染时会导致 BALB/c 小鼠的角膜上皮损伤随后引起坏死性或免疫性 HSK,而此毒株在 C57BL/6 小鼠的相同感染仅仅引起上皮损伤,不会继续发展成 HSK。与之不同的是, RE 毒株可引起 BALB/c 和 C57BL/6 小鼠的上皮损伤并进展为 HSK (Fenton et al. 2002)。病毒基因组(包含约 86 个阅读框)和宿主基因组的这一复杂性在遗传学层面解释了这一疾病的多态性。但近期在 RNA 和 DNA 测序技术方面的进展,增加了将来对于这一方面研究的可行性。