

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.04.005

鼠巨细胞病毒感染裸鼠肝脏损伤模型的建立*

宋孙莉¹ 柴竹洁¹ 顾绍庆^{2Δ} 方 圆² 詹纪春²

(1 江苏大学医学院 江苏 镇江 212013;

2 江苏大学附属人民医院儿科 江苏 镇江 212002)

摘要 目的:建立鼠巨细胞病毒(MCMV)感染 BALB/c 裸鼠肝脏损伤的模型。**方法:**健康 SPF 级 BALB/c 裸鼠 10 只随机分为实验组和对照组,每组 5 只。实验组小鼠每只经腹腔注射接种 250 μL MCMV 病毒悬液,对照组小鼠每只腹腔接种 250 μL DMEM 培养液,于接种后第 7 天处死,无菌分离其肝脏,通过测定肝组织谷丙转氨酶(ALT)、实时荧光定量 PCR 检测 MCMV DNA 拷贝数、苏木精-伊红(HE)染色等方法,观察裸鼠肝脏组织的受损情况。**结果:**所有实验组的裸鼠均出现了不同程度的腹水;实验组裸鼠测定的肝组织 ALT 值较对照组明显上升($P<0.05$);实时荧光定量 PCR 检测出实验组裸鼠肝脏 MCMV DNA 呈阳性;实验组肝脏病理切片 HE 染色可见大量炎症细胞浸润,肝细胞嗜酸性变,可见不规则包涵体,而对照组正常。**结论:**经腹腔注射 250 μL MCMV 病毒悬液 7 天后成功构建了裸鼠肝脏损伤的模型,为探究人巨细胞病毒(HCMV)的发病机制以及抗病毒新药和疫苗的研发提供了有利条件。

关键词:鼠巨细胞病毒;肝脏损伤;BALB/c 裸鼠;模型

中图分类号:R-33;R657.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)04-621-05

Establishment of Liver Injury Model in Nude Mice Infected with Murine Cytomegalovirus*

SONG Sun-Li¹, CHAI Zhu-jie¹, GU Shao-qing^{2Δ}, FANG Yuan², ZHAN Ji-chun²

(1 Medical College of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu, 212013, China;

2 Department of Pediatrics, People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu, 212002, China)

ABSTRACT Objective: To establish a liver injury model in BALB/c nude mice infected with murine cytomegalovirus (MCMV). **Methods:** 10 healthy SPF BALB/c nude mice were randomly divided into experimental group and control group, each group 5. The mice in the experimental group were intraperitoneally inoculated with 250 μL MCMV virus suspension, and the mice in control group were intraperitoneally inoculated with 250 μL DMEM culture medium, the mice were sacrificed 7 days after inoculation, and their livers were aseptically separated. The liver tissue damage of nude mice was observed by measuring alanine aminotransferase (ALT) in liver tissue, real-time fluorescence quantitative PCR for detection MCMV DNA copy number and hematoxylin-eosin (HE) staining and other methods. **Results:** Nude mice in all the experimental groups showed ascites to varying degrees. ALT value in liver tissue of nude mice in experimental group was significantly higher than that in control group ($P<0.05$). Real-time fluorescence quantitative PCR detected that Liver MCMV DNA of nude mice in the experimental group was positive. HE staining of pathological sections of liver in the experimental group showed a large number of inflammatory cell infiltration, eosinophilic changes of liver cells, and irregular inclusion bodies, while the control group was normal. **Conclusion:** The liver injury model of nude mice is successfully established after intraperitoneal injection of 250 μL MCMV suspension for 7 days, which provided a beneficial condition for the study of the pathogenesis of human cytomegalovirus (HCMV) and the research and development of antiviral drugs and vaccines.

Key words: Murine cytomegalovirus; Liver injury; BALB/c nude mice; Model

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R657.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)04-621-05

巨细胞病毒属于β疱疹病毒家族,是一种线性双链 DNA 分子结构病毒^[1,2]。它能够在宿主体内长期潜伏存在,而且具有严格的种属特异性。人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是针对人类宿主的巨细胞病毒,在人群中的感染十分普遍,发展中国家有超过 80%的人血清检测呈阳性^[3]。目前

HCMV 被认为是胎儿、同种异体移植受者、骨髓移植患者和艾滋病患者常见的机会性感染病毒^[4-6]。由于 HCMV 在人类细胞中能够特异性增殖,生长比较缓慢,并且有很长的裂解复制周期,因此研究 HCMV 基因的功能和发病机制十分困难。目前为止没有发现能把巨细胞病毒从体内彻底清除的方法,也没有针

* 基金项目:江苏省自然科学基金项目(BK20151334);镇江市重点研发计划社会发展项目(SH2018038)

作者简介:宋孙莉(1995-),女,硕士研究生,研究方向:儿科学,E-mail:sunshine95521@163.com

Δ 通讯作者:顾绍庆(1969-),男,博士,主任医师,研究方向:儿科学,E-mail:gsqcccc@163.com

(收稿日期:2021-06-02 接受日期:2021-06-26)

对潜伏感染的治疗药物,甚至没有能够获批上市的有效疫苗。然而,不同的病毒宿主对病毒致病和免疫控制方面的功能具有相似性。鼠巨细胞病毒(murine cytomegalovirus, MCMV)和HCMV在遗传上有许多相似之处,具有多个同源基因,包括结构和免疫逃避基因^[7,8]。肝脏是巨细胞病毒感染最常累及的器官之一,多种细胞和细胞因子参与了巨细胞病毒感染肝损伤的发生发展过程^[9]。巨细胞病毒感染也是婴儿肝炎综合征发病的重要因素之一^[10]。因此,使用MCMV感染小鼠肝脏损伤的模型来模拟HCMV在人体的感染过程,可以更好地研究HCMV在体内的致病机制,为开发出治疗HCMV感染的新药物以及评估疫苗的效果提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康SPF级别BALB/c裸鼠10只,雄性,4周龄,购自江苏集萃药康生物科技有限公司(许可证号:SCXK(苏)2018-0008),饲养于干净无菌的环境,实验前需适应性饲养1周,并采用ELISA试剂盒测定裸鼠尾静脉血清MCMV

IgM/IgG抗体,两者均为阴性方可纳入实验。

1.2 病毒和细胞

病毒为小鼠巨细胞病毒MCMV Smith株,由安徽医科大学微生物学教研室提供;细胞为小鼠胚胎成纤维细胞原代细胞株(mouse embryo fibroblast, MEF),购自上海富衡生物科技有限公司,病毒使用前需要在MEF细胞中传代增殖,然后收毒,备用。

1.3 主要试剂

DMEM高糖培养基、胰蛋白酶消化液、双抗溶液购自美国Gibco公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自德国BI公司;DNA提取试剂盒购自江苏康为世纪生物科技有限公司;ALT检测试剂盒购自武汉伊莱瑞特有限公司;荧光定量试剂购自北京夏末科技有限公司;绝对荧光定量PCR质粒标准品由上海生物工程有限公司合成。

1.4 PCR引物

引物设计参照文献^[11],由上海生物工程有限公司合成。见表1。

表1 MCMV引物序列
Table 1 MCMV primer sequence

Primer name	Sequence	Sequence position	Product size
MCMV upstream primer	5'-TCAGCCATCAACTCTGCTACCAAC-3'	181167~181190	
MCMV downstream primer	5'-ATCTGAAACAGCCGTATATCATCTTG-3'	181091~181116	100bp

1.5 方法

1.5.1 MEF细胞传代培养 取生长覆盖达85%以上的MEF细胞一瓶,用枪头吸取并弃去其中的培养液,无菌PBS浸润洗涤2次,加入1 mL胰酶消化液,消化30 s~60 s。在镜下观察,可见细胞变圆、脱落,立刻加入适量含10% FBS的培养液终止消化,用枪头吸取培养液轻轻吹打瓶壁,使瓶壁上的细胞悬浮,然后将细胞悬液吸至无菌离心管中,800 r/min,离心5 min,离心后弃去上清,加入细胞培养液重悬,重悬后分瓶培养,混匀铺平,标好细胞种类、代数以及日期,放入37℃ 5% CO₂培养箱中培养。每次待细胞长满85%以上,即可进行传代,本实验中使用的细胞为5~7代细胞。

1.5.2 MCMV传代增殖 取病变达75%以上的MCMV感染的MEF,将培养瓶置于-80℃冰箱20 min,待其完全冻住后取出,置于流水下冲洗,使其完全融化,然后吹打混匀。取两瓶生长状态良好的正常MEF细胞,弃去其中的培养液,分别加入500 μL病毒悬液,放入37℃培养箱中,每隔15 min震荡一次,1 h后加入维持液继续培养,每日观察其变化,待其病变达75%以上即可传代,直至48 h内MCMV可引起75%以上病变,然后收毒,置于-80℃冰箱待用。

1.5.3 MCMV半数致死量TCID₅₀的测定 取生长状态良好的MEF细胞制成5×10⁷/mL的细胞悬液,加入96孔板中,每孔100 μL,经过24 h,待细胞长成单层后接种病毒悬液。弃去96孔板中的细胞培养液,取30 μL病毒悬液使用含2% FBS的DMEM培养液作10倍梯度稀释(10⁻¹、10⁻²、10⁻³……10⁻¹¹),每个稀释梯度设2个复孔,每孔加入100 μL稀释后的病毒液,同时

设置2个只加维持液的正常细胞对照孔,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养,每日观察并记录出现细胞特征性病变效应(cytopathic effect, CPE)的孔数,观察7-10天。根据Reed-Muench法^[12]计算出病毒的TCID₅₀。公式为:lgTCID₅₀=高于50%的病毒稀释度的对数+距离比例×稀释系数的对数,距离比例=(高于50%的百分数-50%)/(高于50%的百分数-低于50%的百分数)。经过计算,得出该病毒悬液TCID₅₀为10-6.5/0.1 mL。

1.5.4 实验分组及接种 将健康SPF级BALB/c裸鼠10只随机分为两组:实验组和对照组,每组5只。实验组小鼠每只经腹腔注射接种250 μL MCMV病毒悬液,对照组小鼠每只腹腔接种250 μL DMEM培养液。接种后每日观察小鼠的行为表现,并定时记录小鼠的进食量和水量,于第7天麻醉后采用断颈法处死小鼠,无菌分离其肝脏,观察肝脏的大小及颜色,用4℃ PBS冲洗干净,滤纸滤干。

1.5.5 比色法检测肝组织ALT 取50 mg洗净的肝脏加入450 μL含0.1 mmol/L乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)的PBS,在冰上用超声破碎仪磨碎,制成10%肝组织匀浆,4℃ 10000 ×g离心10 min,然后取上清置于冰上,用微量紫外分光光度计测定其蛋白浓度,按照试剂盒操作,并用酶标仪测定其在510 nm波长处的吸光度,最后根据公式计算出ALT的值。

1.5.6 实时荧光定量PCR检测肝组织MCMV DNA 取部分肝组织于生物安全柜中用超声破碎仪磨碎,按照DNA提取试剂盒操作,提取出总DNA,并用微量紫外分光光度计测定其浓度。用ddH₂O将质粒标准品按10倍浓度梯度稀释,稀释后的

标准品作为模板,进行 PCR 反应,每个稀释梯度设 3 个复孔,制得标准曲线。PCR 反应体系:2×FastHotstart SYBR 预混液 10 μL,MCMV 上下游引物 (10 μM) 各 0.4 μL,DNA 模板 100 ng,用灭菌 ddH₂O 补足至终体积为 20 μL。PCR 反应采取两步法程序:95℃ 2 min,95℃ 10 s,59℃ 30 s,一共 40 个循环。

1.5.7 肝脏病理学检查 取一部分洗净的肝脏置于 10%福尔马林溶液中固定、脱水,再用石蜡包埋、切片,进行苏木精 - 伊红(HE)染色,在光镜下观察其变化。

1.6 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,进食量、水量、肝组织

ALT 值等计量资料经检验符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 代表两组的差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裸鼠的行为表现变化

实验组裸鼠出现了不同程度的腹水,反应迟钝,觅食活动减少,呼吸频率加快,而对照组裸鼠则正常生长,没有出现腹水,反应和活动都正常,没有其他任何异常表现。实验组裸鼠每日进食量和每日水量明显低于对照组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组裸鼠每日进食量和水量($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Daily food intake and water quantity of the two groups of nude mice($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Daily food intake (g)	Daily water quantity (mL)
Control group	5	6.56±0.84	4.95±0.39
Experimental group	5	5.09±0.61	3.83±0.47
t		3.738	4.853
P		0.003	0.000

2.2 肝组织 ALT 值比较

实验组肝组织 ALT 值为 (159.02±19.59)IU/g prot,明显高于对照组的(106.55±9.76)IU/g prot,两组比较差异具有统计学意义($t=5.361, P=0.001$),说明实验组的裸鼠出现了肝功能损害。

2.3 肝脏 MCMV DNA 拷贝数比较

实验组熔解曲线(图 1A)呈现单峰,熔解温度一致,表示不

存在非特异性扩增,说明得到的结果较可靠;扩增曲线(图 1B)显示实验组肝脏 MCMV DNA 呈现较好的扩增,说明裸鼠肝脏中有大量 MCMV DNA 复制。对照组则没有检测到 MCMV 特异性 DNA 片段的扩增。肝脏 MCMV DNA 拷贝数结果见下表 3,实验组肝脏 MCMV DNA 呈阳性,进一步证明了 MCMV 成功感染了裸鼠,导致其肝脏损伤。实验组裸鼠肝脏实时荧光定量 PCR 熔解曲线及扩增曲线见图 1。

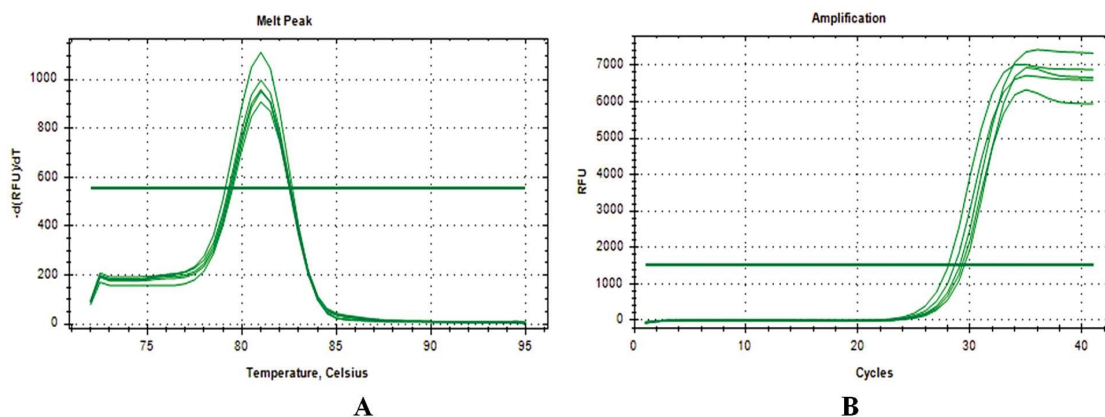


图 1 实时荧光定量 PCR 熔解曲线及扩增曲线

Fig. 1 Melting curve and amplification curve of real-time fluorescence quantitative PCR

Note: A: Fusion curve of real-time fluorescence quantitative PCR in the experimental group.

B: Real-time fluorescence quantitative PCR amplification curve of the experimental group.

表 3 裸鼠肝脏 MCMV DNA 拷贝数(n=5, copies/100 ng)

Table 3 MCMV DNA copy number in nude mouse liver(n=5, copies/100 ng)

Groups	MCMV DNA copy number	Maximum value	Minimum value
Control group	-	-	-
Experimental group	(1.98±0.98)×10 ⁴	3.70×10 ⁴	8.67×10 ³

2.4 裸鼠肝脏病理学检查结果

实验组裸鼠肝脏质地较脆,易碎,且颜色较深,为暗红色,

几乎占满整个腹腔;对照组肝脏质地较之有韧性,颜色较浅,大小正常。实验组肝脏病理切片 HE 染色可见肝脏组织内有明显

的炎性改变,以中性粒细胞和淋巴细胞为主,显示嗜酸性变的肝细胞及少量嗜酸性小体样改变,并可见"猫头鹰眼征"的病

毒包涵体,以及部分小灶性坏死;对照组肝脏内则无炎症细胞浸润,结构清晰。裸鼠肝脏病理学检查结果见图2。

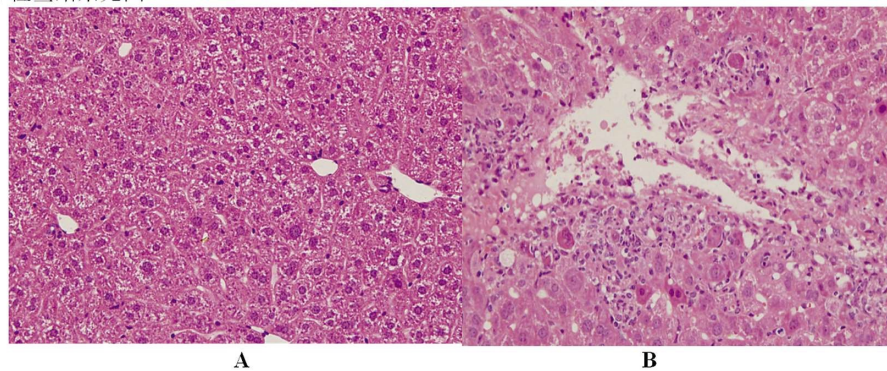


图2 裸鼠肝脏病理结果(HE染色×200)

Fig. 2 Liver pathological results of nude mice (HE staining ×200)

Note: A: Liver pathological results of nude mice in control group;

B: Liver pathological results of nude mice in the experimental group

3 讨论

HCMV 感染人体后,通常都是无临床症状的潜伏感染,当机体的免疫力发生变化之后,HCMV 很有可能从潜伏感染的状态被重新激活,甚至还可以感染新的人巨细胞病毒株,引起多个脏器的损伤^[13,14]。HCMV 除了可以直接引起感染组织产生病变,也可以间接对机体造成影响,例如移植排斥反应和心血管疾病等^[15-17]。最近有研究发现^[18],HCMV 隐藏在有效的细胞介导和体液免疫反应中的慢性效应与普通人群的高死亡率有关,因此,这种病毒对于人类的影响可能比预想还要大。目前所发现的抗病毒靶点较少,抗病毒药物和疫苗也没有完全起作用并且存在不良反应,一些免疫疗法也需要不断创新和尝试。HCMV 只能感染人类宿主,由于巨细胞病毒是一种具有严格种属特异性的疱疹病毒,研究 HCMV 在人体内的致病机制,直接在人体中建模做实验不现实^[19-21],因此,建立动物模型则很有必要。HCMV 可以通过胎盘传播给胎儿,引起先天性的肝炎、小头畸形、视力丧失、智力低下、运动障碍、癫痫发作和听力损失等^[22,23]。但是,有研究表明 MCMV 不能通过胎盘传播,因此,MCMV 不能够模拟一些先天性感染导致的疾病^[24]。过去有研究^[25]使用免疫功能正常的小鼠建立肝炎模型,一般都需要同时使用免疫抑制剂,这对于巨细胞病毒感染的诊断和治疗都会存在一定的干扰,还有研究使用新生小鼠建模,尚未见有使用裸鼠建模的报道。由于 BALB/c 裸鼠本身存在 T 细胞缺陷,用它们来建模比较方便,更易成功,还能更好模拟免疫缺陷患儿 HCMV 感染后的情况,同时还可以深入研究 T 细胞与 HCMV 感染的关系。

模型的成功与否与 MCMV 病毒悬液接种的剂量有密切关系,剂量较小,则不易致病;剂量较大,则易直接导致死亡。本实验给 BALB/c 裸鼠腹腔注射 250 μ L MCMV 病毒悬液,裸鼠的反应变得迟钝,进食量和水量均明显下降,并且出现了不同程度腹水。ALT 是反映肝功能的灵敏指标^[26,27],实验组肝脏组织 ALT 值明显升高,实时荧光定量 PCR 也显示肝脏 MCMV DNA 为阳性,肝脏病理切片显示出现大量炎症细胞浸润和特

征性病毒包涵体,说明 MCMV 感染 BALB/c 裸鼠肝脏损伤模型的建立成功,从侧面也可以反映出 T 细胞在机体抗 MCMV 感染过程中起着不可或缺的作用。

在抗病毒药物和疫苗的研制过程中,学者发现很多疾病的发生,甚至人类的衰老现象也与 HCMV 的感染有关^[28-30]。对于 HCMV 的研究有助于认识自身疾病,但是目前对于巨病毒的研究依然不足,随着时间的推移,病毒也会产生一些变异,这也给疫苗的研发和药物的研制带来了不少困难。成功建立 MCMV 感染裸鼠肝脏损伤模型,可以深入研究 T 细胞缺乏后 HCMV 感染机体后的免疫机制,研究体内一些细胞因子的变化,有望为免疫缺陷患儿巨细胞病毒感染的治疗提供一些新的方向和靶点,为评估抗 HCMV 感染药物以及疫苗的疗效提供参考。本研究尚存在一些不足,MCMV 感染裸鼠后,没有设置更多的时间点来动态观察裸鼠肝脏 MCMV DNA 拷贝数以及肝脏病理损害程度的变化情况。

参考文献(References)

- [1] Masarweh K, Felszer-Fisch C, Shinwell E, et al. The Yield of Targeted Examination for the Detection of Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection[J]. *Isr Med Assoc J*, 2021, 23(5): 318-322
- [2] 吴舒婷, 彭虹艳, 方芳, 等. 巨细胞病毒感染 C57BL/6 小鼠诱导 NK 细胞免疫应答的模型研究[J]. *国际免疫学杂志*, 2021, 44(1): 7-14
- [3] Zuhair M, Smit GSA, Wallis G, et al. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis[J]. *Rev Med Virol*, 2019, 29(3): e2034
- [4] Rolland M, Martin H, Bergamelli M, et al. Human cytomegalovirus infection is associated with increased expression of the lissencephaly gene PFAFH1B1 encoding LIS1 in neural stem cells and congenitally infected brains[J]. *J Pathol*, 2021, 254(1): 92-102
- [5] Sittivarakul W, Prapakornkovit V, Jirattanasopa P, et al. Surgical outcomes and prognostic factors following vitrectomy in acquired immune deficiency syndrome patients with cytomegalovirus retinitis-related retinal detachment [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(43): e22889
- [6] Chuleerarux N, Thongkam A, Manothummetha K, et al. Does

- Post-Transplant Cytomegalovirus Increase the Risk of Invasive Aspergillosis in Solid Organ Transplant Recipients? A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *J Fungi (Basel)*, 2021, 7(5): 327
- [7] Sweet C. Lessons from studies with murine cytomegalovirus that could lead to a safe live attenuated vaccine for human cytomegalovirus[J]. *Access Microbiol*, 2020, 2(9): acmi000147
- [8] Zhang LL, Zhang XY, Lu YY, et al. The Role of Autophagy in Murine Cytomegalovirus Hepatitis[J]. *Viral Immunol*, 2021, 34(4): 241-255
- [9] Wu Y, Dong X, Wu R, et al. Efficacy and safety of spleen aminopeptide oral lyophilized powder in ameliorating liver injury in infants and children with human cytomegalovirus infection: a single-center study in China[J]. *Transl Pediatr*, 2021, 10(1): 136-145
- [10] 王宝香, 朱润庆. 婴儿肝炎综合征、胆道闭锁、胆总管囊肿与巨细胞病毒感染的关系[J]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14(17):1745-1747
- [11] 王璐, 师娜, 许涛, 等. TRAIL 及其受体 DR5 在 MCMV 肝炎新生小鼠模型肝组织中的表达和意义[J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(10): 2220-2224
- [12] 钱红, 刘理静. IL-17 单克隆抗体对病毒性心肌炎小鼠的保护作用及其机制[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(5): 509-512
- [13] Chen C, Chen S, Han Z, et al. Patients with *Helicobacter pylori*-positive gastric cancer with human cytomegalovirus infection have a low tendency of advanced lymphatic metastasis in a Chinese population[J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(5): 402
- [14] 郭信, 赵笑天, 吴小雨, 等. 新型 PEI 衍生物的体外表征及对巨噬细胞的转染效果研究[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(14): 2620-2625
- [15] Vasilieva E, Gianella S, Freeman ML. Novel Strategies to Combat CMV-Related Cardiovascular Disease[J]. *Pathog Immun*, 2020, 5(1): 240-274
- [16] Chen S, Pawelec G, Trompet S, et al. Associations of Cytomegalovirus Infection With All-Cause and Cardiovascular Mortality in Multiple Observational Cohort Studies of Older Adults [J]. *J Infect Dis*, 2021, 223(2): 238-246
- [17] Yoon M, Oh J, Chun KH, et al. Post-transplant absolute lymphocyte count predicts early cytomegalovirus infection after heart transplantation[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1426
- [18] Chanouzas D, Sagmeister M, Dyall L, et al. The host cellular immune response to cytomegalovirus targets the endothelium and is associated with increased arterial stiffness in ANCA-associated vasculitis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 194-204
- [19] Di Antonio V, Palù G, Alvisi G. Live-Cell Analysis of Human Cytomegalovirus DNA Polymerase Holoenzyme Assembly by Resonance Energy Transfer Methods[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 928
- [20] Weiler N, Paal C, Adams K, et al. Role of Envelope Glycoprotein Complexes in Cell-Associated Spread of Human Cytomegalovirus[J]. *Viruses*, 2021, 13(4): 614
- [21] Sheng X, Cristea IM. The antiviral sirtuin 3 bridges protein acetylation to mitochondrial integrity and metabolism during human cytomegalovirus infection[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(4): e1009506
- [22] 肖娟, 陈素华, 陈娟娟, 等. 人胎盘滋养层细胞体外感染 HCMV 后的生物学特性变化[J]. *山东医药*, 2010, 50(15): 27-28
- [23] Tabata T, Pettitt M, Zydek M, et al. Human cytomegalovirus infection interferes with the maintenance and differentiation of trophoblast progenitor cells of the human placenta[J]. *J Virol*, 2015, 89(9): 5134-5147
- [24] Fisher MA, Lloyd ML. A Review of Murine Cytomegalovirus as a Model for Human Cytomegalovirus Disease-Do Mice Lie? [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 214-233
- [25] 张中洋, 李秀玲, 何薇薇. 人巨细胞病毒 gB 基因真核表达载体在小鼠中的免疫效果[J]. *中国生物制品学杂志*, 2005, 18(6): 487-489
- [26] 蒙毅军, 余洪立, 杨石. GLDH、GGT、ALT、ALP 联合检测对药物性肝损伤诊断的临床意义 [J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(12): 1735-1737
- [27] 傅求真, 白玉蓉, 寇丹, 等. 脂肪肝患者 ALT、AST、 γ -GT 水平及意义[J]. *中华保健医学杂志*, 2019, 21(5): 454-455
- [28] Alkhashrom S, Kicuntod J, Höge S, et al. Exploring the Human Cytomegalovirus Core Nuclear Egress Complex as a Novel Antiviral Target: A New Type of Small Molecule Inhibitors [J]. *Viruses*, 2021, 13(3): 471
- [29] Zavaglio F, Fiorina L, Suárez NM, et al. Detection of Genotype-Specific Antibody Responses to Glycoproteins B and H in Primary and Non-Primary Human Cytomegalovirus Infections by Peptide-Based ELISA[J]. *Viruses*, 2021, 13(3): 399
- [30] 安静, 王宇虹, 韩辉. 巨细胞病毒慢性感染与免疫衰老相关性研究进展[J]. *国际免疫学杂志*, 2014, 37(2): 105-109