

不同抗原诱导不同动物多发性硬化模型的比较

陆正齐, 朱灿胜, 郑雪平, 王敦敬, 胡学强
(中山大学附属第三医院神经病学科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】研究不同抗原和不同动物的多发性硬化动物模型的神经功能损害和病理特点。【方法】分别用 MOG 35-55 免疫 C57BL/6 小鼠建立小鼠 EAE 模型, 以豚鼠脊髓匀浆为抗原致敏 DA 大鼠建立大鼠 EAE 模型, 用同源猴脑白质匀浆免疫食蟹猴建立非人灵长类 EAE 模型; 分别用不同的神经功能评分标准评价 EAE 的神经功能缺失, 用 HE 染色观察炎症细胞浸润, 砂罗铬花青法 (solochrome cyanin) 或 LBF 染色观察髓鞘脱失情况, 用改良的 Bielschowsky 法染色观察轴突损伤; 用透射电镜观察超微结构改变。【结果】用不同的抗原如 MOG 35-55 乳化液、豚鼠脊髓匀浆和同源猴脑白质匀浆均能成功制作 EAE 模型, 发病率为 100%, 其中豚鼠脊髓匀浆诱导的 DA 大鼠 EAE 动物模型为急性模型, 病情恢复快, 炎症反应重, 脱髓鞘轻微; 用 MOG 35-55 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型为慢性进展模型, 炎症反应轻, 脱髓鞘和轴突损伤明显, 是 MS 的优秀模型。用同源猴脑白质匀浆致敏的 EAE 食蟹猴有急性病程的, 有复发的, 有慢性进展型的, 脱髓鞘和轴突变性明显。【结论】不同抗原和不同动物的 EAE 模型无论从病程、神经功能评分和病理改变方面均有自己的特点。用 MOG 35-55 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型是 MS 的优秀模型。

关键词: 多发性硬化; 实验性变态反应性脑脊髓炎; 动物模型

中图分类号: R744 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-3554(2008)06-0684-06

Comparison of Various Animal Models of Multiple Sclerosis Induced by Different Antigens on Different Animals

LU Zheng-qi, ZHU Can-sheng, ZHENG Xue-ping, WANG Dun-jing, HU Xue-qiang
(Department of Neurology, The Third Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To compare neurofunctional impairment and pathological features of various animal models of multiple sclerosis (MS)-experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)-induced by different antigens on different animals. 【Methods】 C57BL/6 mice EAE model, DA rat EAE model and cynomolgus monkeys EAE model were induced by MOG 35-55 peptide, guinea pig spinal cord homogenate (GPSCH) and cerebral white matter homogenate (CWMH) emulsified with complete Freund's adjuvant (CFA), respectively. Neurofunctional scores were recorded. Tissues were sectioned and stained with hematoxylin and eosin (HE) for revealing inflammatory infiltrates. Solochrome cyanin technique or Luxol fast blue staining was used for myelin staining, and Bielschowsky's staining for axonal damage. Ultrastructure was observed by electronic microscope. 【Results】 EAE models were successfully induced by all methods mentioned above. The morbidity of all the experimental animals was 100%. However, C57BL/6 mice EAE model immunized with MOG 35-55 peptide was chronic and progressive, with mild inflammation, obvious demyelination and axonal loss. DA rat EAE model was acute, with severe inflammation and mild demyelination. Cynomolgus monkeys EAE model was versatile, with acute, chronic relapsing and progressive course and the inflammatory infiltration and demyelination of brain was obvious. 【Conclusion】 These data may indicate that neurofunctional scores and pathological features could be distinctive of various EAE models induced by different antigens on different animals. C57BL/6 mice EAE model immunized by MOG 35-55 peptide emulsified with CFA could be an ideal model of MS.

Key words: multiple sclerosis; experimental autoimmune encephalomyelitis; animal model

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2008, 29(6): 684-689]

收稿日期: 2008-08-13

基金项目: 中山大学临床医学研究“5010 计划”资助

作者简介: 陆正齐 (1964-), 男, 安徽安庆人, 博士, 副教授, 硕士生导师, E-mail: lzq1828@yahoo.com.cn; 胡学强, 通讯作者, 教授, 博士生导师, E-mail: huxueqiangqm@yahoo.com.cn; 王敦敬, 江苏徐州医学院第一附属医院

实验性变态反应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)是由同种型、同种异型、异种异型致脑炎抗原诱导的、实验敏感动物产生的、由细胞免疫反应介导的、以 CNS 白质脱髓鞘为特征的迟发性变态反应性自身免疫疾病^[1]。根据致敏原的组成、致敏的方法和动物的遗传背景的不同,可诱导出超急性、急性、慢性临床和病理特点的 EAE。其中慢性复发性 EAE 与多发性硬化(multiple sclerosis, MS)极相似,是 MS 的优秀模型。可是,我国目前许多学者诱发的模型死亡率高,发病率低,炎症反应重,而脱髓鞘不明显,不能代表临床上的 MS。我课题组 15 年来一直从事 EAE 的制作和研究,下面介绍我科用不同抗原以诱导及不同动物 EAE 的病情和病理特点。

1 材料与方法

1.1 用 MOG 35-55 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型

1.1.1 实验材料 C57BL/6 小鼠,雌性 6~8 周 C57BL/6 小鼠 14 只,体质量 16~20 g。动物来源于中山大学动物实验中心。MOG 35-55 购于加拿大 Sheldon 生物技术中心。

1.1.2 C57BL/6 小鼠 EAE 模型建立 EAE 模型建立参照 Zappia 等^[2]报道的方法。简述如下:所有动物两侧腹股沟上方皮下注射 0.1 mL 的 MOG 35-55 乳化液,其中 MOG 35-55 100 μg ,完全 Freund'佐剂(CFA)500 μL ,其中含 500 μg 灭活的分支杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*),每只动物在免疫的当天和 48 h 后腹腔注射 400 ng 的百日咳毒素(pertussis toxin)。

1.1.3 C57BL/6 小鼠 EAE 病情评分 C57BL/6 小鼠 EAE 病情评分标准采用 Pluchino 等^[3]报道的方法,标准如下:1 级,部分尾巴下垂;2 级,完全尾巴下垂;3 级,完全尾巴下垂和站立行走缓慢;4 级,后肢部分瘫痪;5 级,后肢完全瘫痪;6 级,濒死状态。

1.1.4 病理检查 于发病后 10 d 取 3 只动物,先用 40 g/L 的多聚甲醛心内灌注,快速处死,取脊髓的腰骶段,再用多聚甲醛后固定,切成石蜡切片,切片厚度 5~6 μm ,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。HE 染色^[4]:用以观察炎症变化,评分标准^[2]:0 分,没有炎性细胞;1 分,少数散在的炎性细胞;2 分,炎性细胞聚

集浸润在血管的周围;3 分,广泛的血管套形成,并延伸入邻近实质区域,或实质区域的浸润而无明显的血管套形成。砂罗铬花青法^[4](solochrome cyanin):用来观察髓鞘脱失情况,评分标准如下^[2]:1 分,软脊膜下少量脱髓鞘改变;2 分,软脊膜下和血管周明显的脱髓鞘;3 分,软脊膜下或血管周围脱髓鞘斑块融合;4 分,软脊膜下和血管周围广泛的脱髓鞘累及一半的脊髓,并伴有 CNS 实质内炎性细胞的浸润;5 分,广泛的软脊膜下和血管周脱髓鞘累及整个脊髓横断面,伴有 CNS 实质内的炎细胞浸润。轴突染色:用改良的 Bielschowsky 法^[4]染色观察轴突变性。

1.2 用豚鼠脊髓匀浆为抗原致敏 DA 大鼠 EAE 动物模型

1.2.1 实验动物 Dark Agouti (DA)大鼠,雌性 8~10 周,10 只,体质量 250~300 g。动物来源于中山大学动物实验中心。

1.2.2 抗原佐剂乳化物的制备 以豚鼠脊髓匀浆(Guinea pig spinal cord homogenate, GPSCH)与弗氏完全佐剂(complete Freund adjuvant, CFA)均匀混合作为抗原佐剂乳化物。豚鼠以戊巴比妥钠麻醉后(50 mg/kg,腹腔注射),以预冷的冰生理盐水心脏灌注至右心房流出液清亮时,小心取出豚鼠脊髓,挑去脊膜及血管,称质量,加等量的完全弗氏佐剂(CFA),用注射器反复抽打,制成油包水状态,即成抗原佐剂乳化物。

1.2.3 DA 大鼠 EAE 动物模型建立 DA 大鼠尾部皮肤常规消毒后,进行单点皮下注射抗原佐剂乳化物 0.2 mL。正常对照组动物注射同等剂量 CFA + 生理盐水。免疫当日及免疫后所有动物每日观察大鼠饮食、活动情况,并称量体质量。

1.2.4 DA 大鼠 EAE 动物模型神经功能评分 评分标准采用 Reynolds 等^[5]报道的方法,标准如下:0 分,无明显异常;1 分,尾巴无力松弛;2 分,行动迟缓,轻度共济失调;3 分,后肢无力;4 分,后肢麻痹;5 分,四肢麻痹或死亡。

1.2.5 病理检查 于发病后 10 d 取 5 只动物,先用 40 g/L 的多聚甲醛心内灌注,快速处死,取脑和脊髓,再固定,切成石蜡切片,切片厚度 5~6 μm ,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。HE 染色:同前。LBF 髓鞘染色: Luxol fast blue (LBF) 染色^[5]观察髓鞘脱失情况。

1.3 用同源猴脑白质匀浆制作食蟹猴 EAE 模型

1.3.1 实验动物 食蟹猴,雌性 6~10 月,10 只,

体质量 2.5 ~ 3.0 kg。动物来源于广东省灵长类动物实验中心。

1.3.2 抗原佐剂乳化物的制备 健康食蟹猴脑,新鲜无菌保存于零下 70 °C 度,在 18 °C 下去灰质,按体质量/体积 = 1/1.5 将猴脑白质加 PBS,制成猴脑白质匀浆,按体积/体积 = 1/1 加 CFA,用注射器反复抽打,制成油包水状态,即成抗原佐剂乳化物。

1.3.3 食蟹猴 EAE 动物模型的建立 致敏实验动物产生 EAE 的途径有皮下、皮内、肌肉、腹腔和静脉注射多种途径,经大量动物试验研究证实皮下多部位注射致敏原诱导 EAE 的发生率最高。我们采取腋窝和腹股沟皮下注射免疫动物每处注射 0.2 mL,每次 3 ~ 4 处。5~7 d 后重复注射一次。

1.3.4 EAE 的病情分级标准 猴 EAE 的临床病情分级标准参照 Massacesi 等^[7]报告的猴 EAE 临床病情评分方法,分为 6 级:0 级,正常;1 级,嗜睡、厌食及体质量下降;2 级,共济失调、震颤;3 级,视力下降、偏瘫及截瘫;4 级,四肢瘫;5 级,濒死状态。

1.3.5 EAE 的病理检查 我们对发病后 10 d 的 EAE 猴进行尸解。取猴脑和脊髓,一侧脑-70 °C 保存,一侧用 40 mL/L 的甲醛溶液固定 6 h,流水冲洗后,从矢状窦将脑切成两半,然后按冠状面分别将额、颞、顶、枕、小脑、脑干、脊髓切成 0.5 cm 厚的组织块,按常规方法脱水、透明、浸润、包埋、制成蜡块。染色方法:用 HE 常规染色^[4]观察炎症变化,用砂罗铬花青染色法观察髓鞘变化。电镜切片制作与观察^[8]:迅速将新鲜切取的修整成 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的组织块置于 25 g/L 的戊二醛和 20 g/L 多聚甲醛前固定液中作固定 3 h 以上,取出后,以四氧化锇后固定 1.5 h,梯度酒精脱水,环氧树脂 Epon812 包埋,AO 型超薄切片机切片,醋酸铀及柠檬酸铅双染,最后用日立 H-600 透射电镜观察。

2 结果

2.1 C57BL/6 小鼠 EAE 病情变化

所有动物 100% 发病(14/14),平均发病时间(14.3 ± 1.5) d,平均病情评分(2.6 ± 0.8)分,最大病情评分(3.9 ± 1.5)分,病情恢复较慢,为慢性进展的 EAE 模型(图 1)。

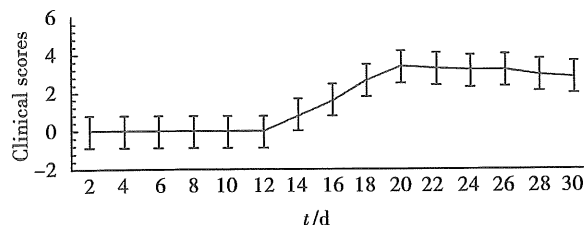


图 1 C57BL/6 小鼠 EAE 病情变化

Fig.1 The change of symptoms in C57BL/6 EAE mice

2.2 DA 大鼠 EAE 动物模型的病情变化

大鼠注射抗原后 14 d 精神萎靡、活动减少、食欲减退、体质量逐渐下降。起病的开始症状为尾部张力下降,继而尾部张力消失、单侧后肢及双侧后肢无力、瘫痪,人为翻身后不能恢复姿态,严重者四肢瘫痪,截至观察日期结束未出现死亡。实验组大鼠于免疫后第 16 天左右开始发病,潜伏期(14.9 ± 0.9)d。表现为一次性急性发病过程,发病率为 100%,平均发病时间为 10 d,发病的高峰期为注射抗原后 18 ~ 22 d,病情恢复较快,平均临床评分为 3.4 ± 1.1。

2.3 食蟹猴 EAE 模型病情变化

经临床病情观察、MRI 和 CSF 细胞检查发现,本试验用同种型猴脑白质匀浆致敏 12 只食蟹猴,全部动物于致敏 5 ~ 30 d 发病,主要表现为:精神萎靡,嗜睡,少食,体重下降,脱毛,共济失调,肢体瘫痪。所有实验动物均发病,病情轻重不同,临床评分 2.5 ± 1.2,无一例昏迷或死亡。发病后 2 月内 12 只致敏的食蟹猴有 3 只复发,6 只为急性发作型 EAE,3 只为慢性进展型 EAE。

2.4 C57BL/6 小鼠 EAE 病理特点

脊髓 HE 染色结果发现脊髓的炎症细胞浸润严重,而且多数腰骶段最重(图 2A),有血管套形成(图 2B),胸段次之,颈部较轻。脑部炎症相对很轻,而且以脑室周围为主。炎症评分为 2.0 ± 0.9。EAE 组的脱髓鞘改变与炎症细胞浸润伴行,多数也以腰骶段最重(图 2C),胸段次之,颈部较轻,脑部很轻,脱髓鞘评分为 4.0 ± 0.9。轴突染色结果显示,脱髓鞘病变严重的,轴突损伤也非常严重(图 2D),两者也几乎并行。

2.5 DA 大鼠 EAE 动物模型的病理结果

2.5.1 HE 染色结果 HE 染色在光镜下可见发病的 DA 大鼠的脑和脊髓组织中有大量炎性细胞浸润(图 3A,B),播及小脑、脑干、脑膜下、血管间隙,小血管周围炎症细胞积聚,呈现袖套样改变(图

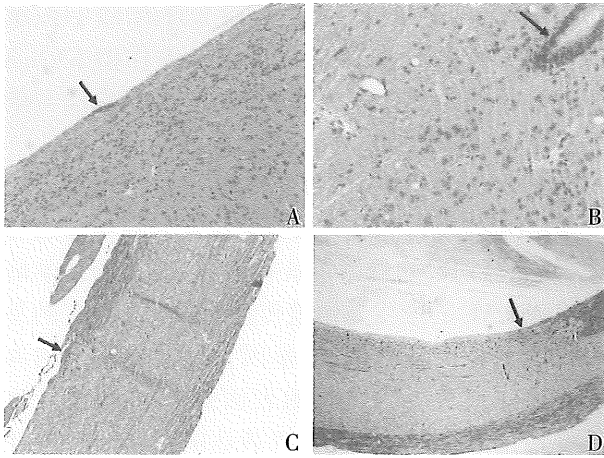


图 2 C57BL/6 小鼠 EAE 的病理改变

Fig.2 The change of pathology in C57BL/6 EAE mice

A: the inflammatory infiltration in the spinal cord, HE 200 ×; B: the vessel cuff in the spinal center, HE 400 ×; C: the demyelination in spinal cord, solochrome cyanin, 100 ×; D: axonal loss in spinal cord, Bielschowsky 100 ×

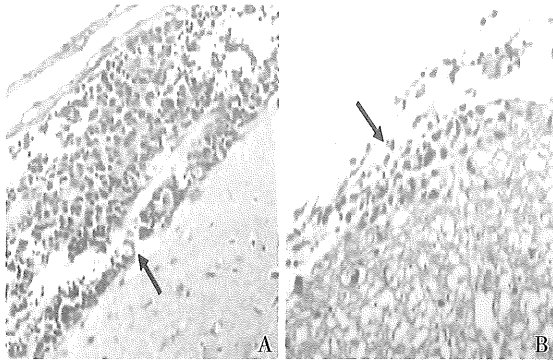


图 3 EAE 模型脑和脊髓 HE 染色

Fig.3 The change of pathology in EAE model with DA rats

A: the inflammatory infiltration in the cerebral ventricle, HE 200×; B: the inflammatory infiltration in the spinal cord, HE 200×

4A, B), 脊髓病变以腰膨大处最明显。病变早期有少量炎性细胞浸润, 随病情发展, 病变范围扩大, 病灶增多, 在病变高峰期血管周围有大量炎性细胞浸润, 血管套征增多, 病变多位于白质区域内。病理变化与临床病情严重程度基本一致。炎症评分为 3.5 ± 0.8 。

2.5.2 LBF 染色结果 髓鞘染色在光镜下见 EAE 动物的髓鞘脱失轻微, 染色淡(如图 5B)。脱髓鞘评分为 2.0 ± 0.4 。

2.6 食蟹猴 EAE 动物模型的病理结果

2.6.1 光镜所见 HE 染色: 见急性 EAE 额、颞、顶、脑干、小脑和脊髓小静脉周围大量淋巴、单核

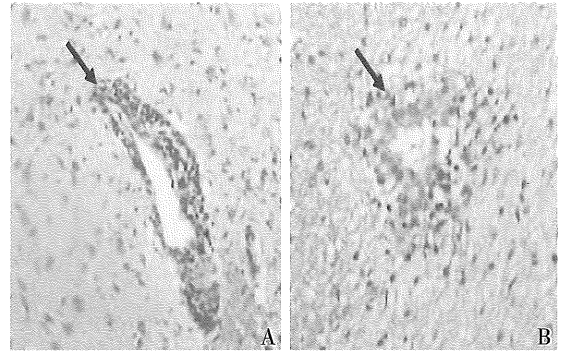


图 4 EAE 模型脑和脊髓血管套样改变

Fig.4 The change of vessel cuff in brain and spinal cord with EAE rats

A: the vessel cuff in the cerebral white matter, HE 200 ×; B: the vessel cuff in the spinal cord, HE 200 ×

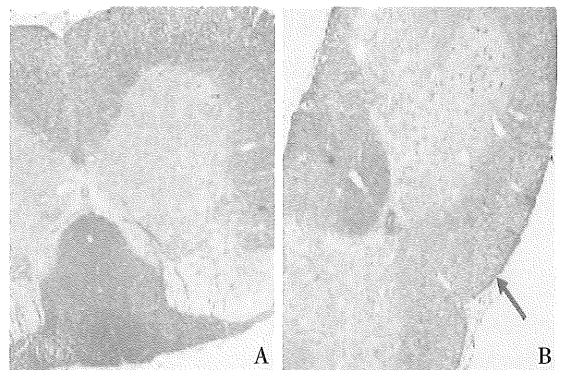


图 5 模型动物脊髓脱髓鞘改变

Fig.5 The change of demyelination in spinal cord with EAE rats

A: normal myelin, LBF 40×; B: the demyelination in the spinal cord, LBF 40×

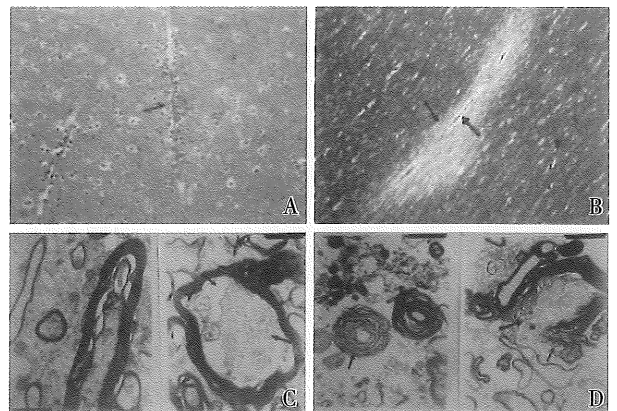


图 6 EAE 猴的病理结果

Fig.6 The results of pathology in EAE monkey

A: the vessel cuff in cerebral white matter, HE 40 ×; B: the demyelination in cerebral white matter, solochrome cyanin, 100 ×; C: the early and mild myelin degeneration, EM, 1000 ×; D: the severely demyelination and axonal degeneration, EM, 1000 ×

细胞浸润, 格子细胞形成及小胶质细胞呈袖套状浸润(图 6A), 炎症评分为 3.0 ± 0.8 。髓鞘染色: 见明显的脱髓鞘病灶, 分布在小静脉周围(图 6B), 脑干、小脑及视神经未见脱髓鞘病灶, 脊髓颈 7、胸 1 后索见小灶性脱髓鞘病灶。脱髓鞘评分为 2.0 ± 0.8 。

2.6.2 电镜所见 急性 EAE 颞叶深部白质, 小脑, 桥脑可见到正常的髓鞘内少突胶质细胞(ODC)胞浆已明显水肿。髓鞘内板层松解和轴突髓鞘分离, 而此时髓鞘外板层正常(图 6C, 左侧), 髓鞘内轴突完好(图 6C, 右侧, 粗箭头), 但 ODC 内水肿明显(图 6C, 右侧, 细箭头), 线粒体肿胀, 嵴模糊或断裂, 核部分溶解。有些髓鞘均匀一致肿胀松解(图 6D, 左侧, 细箭头)。慢性 EAE 基底节区, 小脑及桥脑白质内可见明显的髓鞘脱失或脱落倾向, 轴突明显减少, 脱髓鞘的轴突变性(图 6D, 右侧, 粗箭头)。

3 讨 论

3.1 不同抗原的 EAE 特点

髓鞘碱性蛋白(MBP)诱发的 EAE 模型没有复发缓解的病程, 只有炎症反应明显, 脱髓鞘轻微, 目前认为是急性播散性脑脊髓炎的模型^[9]。近来发现, CNS 中十分微量的一种糖蛋白 M2 是导致 EAE 中脱髓鞘的关键成分, 后来证明它是髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG)。已经发现针对 MOG 的抗体能够在体内和体外造成脱髓鞘, 而同时给予抗 MOG 抗体就能够造成进展性 EAE 模型^[10]。除了在大鼠可造成复发型 EAE, 单剂注射 35 ~ 55 肽段 MOG 在小鼠也可诱发复发—缓解型 MS, 而在 H-2b 小鼠诱发慢性进展的 MS^[11]。它们与 MBP 诱发的 EAE 不同, 但是更具有 MS 的特点。

本文用 MOG 35 ~ 55 诱导 C57BL/6 小鼠 EAE, 所有动物 100% 发病, 平均发病时间 (14.3 ± 1.5) d, 平均病情评分: (2.6 ± 0.8) 分, 最大病情评分 (3.9 ± 1.5) 分, 病情恢复较慢, 炎症反应轻, 脱髓鞘明显, 我们认为是 MS 的优秀模型。用豚鼠脊髓匀浆为抗原致敏的 DA 大鼠 EAE 所有动物 14 天左右 100% 发病, 平均发病天数为 10 d, 发病的高峰期为注射抗原后 18 ~ 22 d, 病情恢复较快, 炎症反应重, 脱髓鞘轻微, 为急性发病过程。而用同源猴脑白质匀浆制作食蟹猴 EAE 模型 12 只, 全部动

物于致敏 5 ~ 30 d 发病, 发病后 2 月内 12 只致敏的食蟹猴有 3 只复发, 6 只为急性发作型 EAE, 3 只为慢性进展型 EAE。因此, 用同源猴脑白质匀浆不能诱发优秀的 MS 模型。

3.2 不同动物的 EAE 模型特点

EAE 的建立不仅与致脑炎抗原和致敏方法有关, 而且与动物的遗传背景有关。经免疫遗传学研究发现 EAE 的发生是由遗传控制的^[12]。EAE 的易感性受免疫反应基因(Ir 基因)影响, Ir 基因的调节作用主要表现为 T 细胞表面受体对 MBP 产生特异性免疫反应。此特异性表达的受体能与 MBP 的特异性致脑炎抗原决定簇连接, 促使脑炎发生。动物的种类不同, 其受体的表达能力不同, 从而对 EAE 的易感性也不同。经研究证实 Lewis 鼠、SJL/J 鼠、猴是最合适的研究对象。

3.2.1 鼠 不同种类鼠对 EAE 的易感性不同, Lewis 鼠对 EAE 非常敏感, SJL/J、SWR/J 种和中国的 KM 鼠对 EAE 也很敏感, 而 Bow-Norway、Balb/c 种鼠对 EAE 有高度的抵抗力, 研究证实后两种鼠 T 细胞上缺乏对 MBP 反应的受体^[1]。

用鼠作为研究对象的优点是: 其遗传基础研究得相当清楚、应用试剂容易得到、繁殖快、价格低廉、诱导 EAE 发生率高达约 80%、复发率高, 故适合大规模研究; 并且鼠 EAE 无论在临床、病理和免疫生化改变等方面与人类脱髓鞘疾病较为相似^[1]。但是, 鼠 EAE 也有不少缺点: 临床症状不易观察; 辅助检查不易进行; 抽血检查外周血 T 淋巴细胞会影响 EAE 的发展; 影像学研究受到影响, 尤其是与人种属差异大。

3.2.2 猴 不同种属的猴对 EAE 的敏感性不同, 其中恒河猴、食蟹猴、Callithrix Jacchus 猴对 EAE 非常敏感, 目前国外应用较多。另外, 研究发现 MHC-DPBI 等位基因是猴对 EAE 敏感的主要遗传因素^[12]。

恒河猴和食蟹猴的应用最多, 因为: 诱发 EAE 发生率高, 达 90% 以上, 复发率也高; 症状出现早, 一般在致敏后 6 ~ 12 d; 症状极易观察评价; 辅助检查和抽血检查易进行且不影响 EAE 的发展; 其临床、病理、生化与免疫学改变与人类 CNS 脱髓鞘疾病极其相似; 影像学研究不受影响, 而且与人种属差异小, 药物试验性治疗代表性大, 因而其应用价值大, 为研究人类 MS 提供了重要模型。近年来, Genain 等^[13]认为非人灵长类动物和人的免疫

系统基因具有相似性,非人灵长类 EAE 动物模型为 MS 的研究提供了非常重要的理论依据,特别在 MS 的影像学和探讨新的治疗措施方面。另外, Genain^[14]用 *Callithrix jacchus* 猴用髓鞘加 CFA 免疫形成 RR-EAE。他们认为这种 EAE 的病理与 MS 的脱髓鞘斑块非常相似。而且认为自身抗体主要攻击的靶是 MBP 和 MOG,另外他们也认为这种猴的 EAE 可以使得 EAE 的 MRI 研究成为可能,而且这种模型的研究可以加快 MS 的治疗进展。

我们用 SJL/J 小鼠、DA 大鼠和食蟹猴成功制作了 EAE 模型。因国外有报道^[15]不同抗原在同一种动物身上不能诱发发病率高的 EAE 模型,因此,我们没有做不同抗原在同一种动物身上的诱发试验。我们认为豚鼠脊髓匀浆诱导的 DA 大鼠 EAE 动物模型为急性模型,病情恢复快,炎症反应重,脱髓鞘轻微,是急性播散性脑脊髓炎的模型;用 MOG 35~55 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型为慢性进展的模型,炎症反应轻,脱髓鞘和轴突损伤明显,是 MS 的优秀模型。用同源猴脑白质匀浆致敏的 EAE 食蟹猴有急性病程的,有复发的,有慢性进展型的,非常类似多发性硬化。但猴价格昂贵,繁殖慢,数量相对较少,而且检查的试剂不容易得到,不适合大规模实验研究,适合影像学和治疗的研究。

总之,不同抗原和不同动物的多发性硬化动物模型无论从病程、神经功能评分和病理改变方面均有自己的特点。用 MOG 35~55 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型是 MS 的优秀模型。

参考文献:

- [1] 饶从志,陆正齐.实验性变态反应性脑脊髓炎[J]. 国外医学神经病学:神经外科学分册,1997,24(3):132.
- [2] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy [J]. *Blood*, 2005, 106(5):1755-1761.
- [3] Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E, et al. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis [J]. *Nature*, 2003, 422(6933):688-694.
- [4] 李玉松.病理学技术(精)[M].北京:人民卫生出版社,2000:31-113.
- [5] Reynolds R, Dawson M, Papadopoulos D, et al. The response of NG2-expressing oligodendrocyte progenitors to demyelination in MOG-EAE and MS[J]. *J Neurocytol*, 2002, 31(6-7):523-36.
- [6] Pistorio AL, Hendry SH, Wang X. A modified technique for high-resolution staining of myelin [J]. *J Neurosci Methods*, 2006, 153(1):135-146.
- [7] Massacesi L, Genain CP, Leeparriz D, et al. Active and passively induced experimental autoimmune encephalomyelitis in common marmosets: a new model for multiple sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 1995, 37(4):519-530.
- [8] 王敦敬,胡学强,陆正齐.慢性实验性变应性脑脊髓炎猴脊髓非病灶部位轴突损伤的机制[J].*中山大学学报:医学科学版*,2006,26(3):649-651.
- [9] Pohl-Koppe A, Burchett SK, Thiele EA, et al. Myelin basic protein reactive Th2 T cells are found in acute disseminated encephalomyelitis [J]. *J Neuroimmunol*, 1998, 91(1-2):19-27.
- [10] Herrero-Herranz E, Pardo LA, Gold R, et al. Pattern of axonal injury in murine myelin oligodendrocyte glycoprotein induced experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for multiple sclerosis [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 30(2):162-173.
- [11] Costa O, Divoux D, Ischenko A, et al. Optimization of an animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis achieved with a multiple MOG(35-55) peptide in C57BL/6J strain of mice [J]. *J Autoimmun*, 2003, 20(1):51-61.
- [12] Sliereendregt BL, Hall M, 't Hart B, et al. Identification of an Mhc-DPB1 allele involved in susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis in rhesus macaques [J]. *Int Immunol*, 1995, 7(10):1671-1679.
- [13] Genain CP, Hauser SL. Creation of a model for multiple sclerosis in *Callithrix jacchus* marmosets [J]. *J Mol Med*, 1997, 75(3):187-197.
- [14] Genain CP, Hauser SL. Experimental allergic encephalomyelitis in the New World monkey *Callithrix jacchus* [J]. *Immunol Rev*, 2001, 183(1):159-172.
- [15] Kuerten S, Angelov DN. Comparing the CNS morphology and immunobiology of different EAE models in C57BL/6 mice—a step towards understanding the complexity of multiple sclerosis [J]. *Ann Anat*, 2008, 190(1):1-15.

(编辑 刘清海)