

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.19.040

EB 病毒动物模型的研究进展*

王 芝, 祁承林, 李 恒, 杜 龙 综述, 唐安洲[△] 审校
(广西医科大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 南宁 530021)

[关键词] EB 病毒; 动物模型; 鼻咽癌

[中图分类号] R373

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)19-2709-04

EB 病毒(Epstein Barr Virus, EBV)是 1964 年首次从 Burkitt 淋巴瘤细胞中分离得到的具有嗜 B 淋巴细胞特性的人类疱疹病毒。该病毒在人群中的感染率高达 90%, 人类通常在婴幼儿时期就感染了 EBV, 并终身携带^[1]。EBV 与多种疾病关系密切, 包括传染性单核细胞增多症、病毒相关性噬红细胞增多症、Burkitt 淋巴瘤、鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)、胃癌、霍奇金淋巴瘤等^[2]。其中, NPC 是我国华南地区常见的恶性肿瘤, 由于其发生的解剖位置隐匿, 具有明显的地域性, 且在国际上研究相对较少, 目前 NPC 的研究面临诸多难题。因此, 构建 EBV 相关的动物模型对于研究 EBV 与 NPC 及其他相关疾病之间的关系, 以及 EBV 在疾病发生、发展中所起到的作用具有重要意义。从发现 EBV 至今, 国内外学者为建立其动物模型付出了巨大的努力, 但成果并不理想。本文就近年来已报道的 EBV 动物模型进行综述, 探讨目前存在的问题及未来的研究方向, 以期为今后研究 EBV 提供资料。

1 EBV 动物模型的研究进展

1.1 灵长类动物模型 研究表明, 许多旧世界猴由于存在对疱疹病毒有交叉反应的抗体, 对疱疹病毒不具感染性, EBV 的宿主范围仅为人类及新世界猴[包括棉顶猴(the cotton-top marmoset)、普通猴(the common marmoset)和猫头鹰猴(the owl monkey)]^[3]。早在 20 世纪 80 年代, 陆续有学者研究了 EBV 对新世界猴等的感染情况。有研究通过静脉结合腹腔及皮下方式, 对 8 只棉顶猴分别接种 EBV 诱导的永生淋巴母细胞及 EBV 悬液, 其中各有一半的棉顶猴是在免疫抑制之后被接种的^[4]。结果接种 EBV 诱导的永生淋巴母细胞组和 EBV 悬液组分别有 1/4 和 3/4 的动物被诱导出淋巴瘤。值得一提的是, 成瘤的 4 只动物中有 3 只接受了免疫抑制剂, 并且其中 2 只诱导出多种肿瘤。这些在免疫抑制状态下的棉顶猴感染 EBV 后均产生了一系列的免疫反应, 包括一些不明显的感染和一些明显的肿瘤形成, 这一现象与免疫系统削弱的人类在 EBV 感染后被诱导出相关疾病极为相似。Niedobitek 等^[5]建立了 EBV 持续性感染棉顶猴的模型, 并最终发展为淋巴瘤。Cleary 等^[6]用高滴度的 EBV 悬液接种棉顶猴, 结果诱导出多种淋巴瘤, 包括淋巴系母细胞肿瘤及浆细胞肿瘤, 并用多种方法检测出这些肿瘤包含了 EBV 基因、表达了 EBV 所有的潜伏性蛋白, 这与 EBV III 型潜伏性感染极其相似。EBV 诱导的恶性肿瘤通常是致命的, 但由于机体的 T 淋巴细胞免疫应答, 其诱导的感染性损伤则多是可逆的, 这些实验中 EBV 诱导的淋巴瘤在严重免疫削弱人群所患恶性淋巴瘤组织增

生相关研究中有着重要价值。普通猴也曾作为研究 EBV 的动物模型, 有研究者成功建立了 EBV 持续感染普通猴的动物模型, 遗憾的是, 仅在猴体内检测到不典型的传染性单核细胞增多及相关的抗体的变化, 未能诱导出淋巴瘤^[7]。

1.2 严重联合免疫缺失(severe combined immune-deficiency, SCID)小鼠模型 1988 年, Mosier 等^[8]在体外利用 EBV 的病毒悬液感染人外周血淋巴细胞(human peripheral blood lymphocytes, huPBLs)建立淋巴系母细胞(lymphoblastoid cell lines, LCLs), 后接种至 SCID 小鼠腹腔以对其进行人类免疫功能的重建, 构建了人源性 SCID 小鼠(hu-PBL-SCID mice)模型, 成功地观察到 B 淋巴细胞组织增生及淋巴瘤。国内外陆续有学者在研究中同样证实了这一结果^[9-11]。有研究证明大多数外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocytes, PBL)可在免疫重建的 SCID 小鼠体内存活 2~4 周, 然后自然死亡^[12]。有学者将 EBV 阳性胃癌细胞移植到 SCID 小鼠身上, 成功诱导出 EBV 相关胃癌模型^[13]。在 EBV 潜伏基因表达模式等方面, 移植胃癌和原胃癌细胞完全一致, 可以作为研究这种特殊类型胃癌的动物模型。另有研究通过建立 EBV 感染的 SCID 小鼠模型, 证实小鼠的肿瘤细胞中能检测出 EBV 核抗原 I (EBV encoded nuclear antigen-1, EBNA-1)的 mRNA 表达, 提示 EBNA-1 可能是临床 EBV 相关肿瘤的治疗靶点^[14]。最近, 有研究通过建立 SCID 小鼠诱导出淋巴瘤动物模型, 检测到潜伏膜蛋白(latent membrane protein, LMP)的表达上调, 推测其可能是 EBV 主要的致病因子, 在淋巴细胞发生恶性转化的过程中可能发挥了重要作用^[15]。Ma 等^[16]通过接种 CD34⁺ 细胞对 SCID 小鼠进行免疫重建, 后接种 EBV 的病毒悬液建立动物模型, 证明了 EBV 早期裂解蛋白对于淋巴瘤产生的作用。Chijioke 等^[17]通过建立 SCID 小鼠感染 EBV 模型, 证明了人类自然杀伤细胞(human natural killer cells, NK 细胞)可以抑制 EBV 裂解性感染, 进而降低传染性单核细胞增多症及淋巴瘤的发生。Hartlage 等^[18]通过建立 hu-PBL-SCID 小鼠模型, 研究了 EBV 相关裂解蛋白(BamH I Z left fragment 1, BZLF1)有可能成为研发 EBV 疫苗的靶向抗原, 这项研究对于 EBV 疫苗及相关疾病的预防控制有着重要的价值。

1.3 转基因动物模型 转基因动物是指用人工的方法将致病基因与启动子连接后通过显微注射、逆转录病毒载体、胚胎干细胞、精子载体等技术导入宿主动物体内, 使之整合到宿主基因组而稳定表达, 并具有遗传功能的一类动物。

目前, EBV 转基因动物模型大多局限于针对 EBNA-1 或

* 基金项目: 基金项目: 广西科技厅广西自然科学基金资助项目(11-31-03)。 作者简介: 王芝(1989-), 在读硕士研究生, 主要从事 EB 病毒动物模型的构建研究。 [△] 通讯作者, E-mail: anzhou@126.com。

潜伏膜蛋白 1(latent membrane protein 1, LMP1)等单个基因而建立的。有研究通过连接 EBNA-1 基因与免疫球蛋白基因启动子 E μ 制备转基因小鼠,成功地在这些小鼠身上发现了淋巴瘤^[19]。这一团队还曾用同样的方法制备 E μ 与 LMP1 基因连接的转基因小鼠,但除口腔黏膜白斑的上皮增生性病外,未见其他异常,且小鼠大部分在发育期死亡,未能检测到肿瘤的发生,但这项研究证明了 LMP1 可以激活多种关键因子并促进新生血管的形成及炎性反应,更进一步地证实了淋巴细胞缺陷能削弱 LMP1 的促炎性反应及致癌作用。这一研究探索了 EBV 相关恶性肿瘤及其主要致癌因子,也为治疗和干预 EBV 相关疾病打下了基础^[20]。有研究者通过构建含金属硫蛋白基因-1 (metallothionein-1, MT-1) 调控区和 LMP 基因的 pBR322-MT-LMP 质粒,用显微注射法将 MT-LMP 转基因接种于小鼠受精卵内制备转基因小鼠的动物模型,构建了携带 LMP 基因的转基因动物,成功率为 8%^[21]。有学者通过获得带有 CMV 启动子的 EBV 膜抗原(membrane antigen, MA)片段,采用显微注射法将其注入小鼠受精卵的雄性原核中,制备了携带 LMP1(BLLF1)基因的转基因小鼠,并用各种检测方法分析了 BLLF1 基因在转基因小鼠外周血淋巴细胞中的表达及 MA 在细胞中的表达部位^[22-23],为深入研究 EBV 感染与自身免疫病的关系提供了有利的动物模型。有研究通过连接免疫球蛋白中的重链启动子和增强子与 LMP1 基因,成功构建了转基因小鼠并检测到 B 淋巴细胞瘤的发生,致瘤率高达 42%^[24]。此外,研究者对这批转基因小鼠进行 EBV 相关基因检测,发现只有 LMP1 表达水平较高,由此证明了 LMP1 蛋白对于 EBV 致瘤的作用极其关键,是具有致瘤作用的蛋白质。有学者构建了表达 EBV 潜伏膜蛋白 2A(latent membrane protein 2A, LMP2A)的转基因小鼠,表明 LMP2A 可以提供 B 淋巴细胞受体阴性的 B 淋巴细胞存活信号,并发现 LMP2A 对于淋巴瘤的发生也至关重要^[25]。有研究利用 ED-L2 是存在于 EBV 基因组内部嗜鳞状上皮的相对特异启动子这一特性,构建了周期素 D1(Cyclin-D1)的转基因小鼠,结果在口腔、食管、前胃等部位的鳞状上皮发现了异常增生^[26],并导致细胞周期、表皮生长因子受体、p53 蛋白活性的异常^[27]。有研究者构建了 ED-L2、PLUNC-P 双启动子调控 NPC 来源的 LMP1 表达载体,采用受精卵前核显微注射法构建转基因小鼠,获得了 58 只转基因鼠,其中 4 只整合阳性,并发现 1 只转基因小鼠的鼻咽、前胃、舌根等部位有外源基因的表达,但在鼻咽上皮细胞未发现明显的病理改变^[28]。有学者采用免疫球蛋白基因启动子构建了可以表达人补体受体 II 型基因(CR2)的转基因小鼠,在这些转基因小鼠体内发现了外周血 B 淋巴细胞被 EBV 感染,说明 EBV 确实可以通过人 CR2 进入 B 淋巴细胞^[29]。有研究采用 SV40 启动子与 EBV 核抗原 2(EBV encoded nuclear antigen-2, EBNA-2)基因连接构建了转基因小鼠模型,在这些动物体内检测到 EBNA-2 的表达,并观察到肾小管增生性病,继而发展到肾腺癌^[30]。冯湘玲等^[31]将 ED-L2-绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)注射入爪蟾受精卵制备了转基因蛙,研究了 EBV 中启动子 ED-L2 启动 GFP 在爪蟾早期胚胎中的表达情况,为研究和判断启动子在体内的组织特异性提供了一种有效的方法。最近,Chang 等^[32]通过连接 C57BL/6 启动子与 LMP2A 基因,制备出 LMP2A 的转基因小鼠,发现表达 LMP2A 基因的小鼠脑脊液炎症较不表达的小鼠加重且发生率更高,说明 LMP2A 可以提高抗原提呈功能,促进炎症的发生、发展。此外,还研究了 LMP1 和 LMP2A 是否

可以在转基因小鼠体内共表达,以及 LMP2A 是否可以对 LMP1 的功能进行调节。这一研究证实,在体外 LMP1 可以上调 B 淋巴细胞活化因子并促进其增生,而 LMP2A 的共表达可以修复 B 淋巴细胞,表明 LMP2A 可能通过调控肿瘤坏死因子受体相关因子 2A(tumor necrosis factor receptor-associated factor 2A, TRAF2A)来调节 B 淋巴细胞的功能^[33]。黄海城^[34]通过连接 NPC 来源的 LMP1(N-LMP1)和 CR2,分别利用泛表达启动子 CMV 和嗜鳞状上皮启动子 ED-L2,筛选出整合了 N-LMP1 和 CR2 双基因的细胞系,将其与卵母细胞融合,通过电激活和化学激活后,将产生的重构胚移植到受体母猪的子宫内,受孕 3 个月后共生产出 16 头小猪,其中转基因阳性猪 6 头,但这 6 头阳性克隆猪均在 2 周内死亡,未能检测 RNA 和蛋白质水平是否表达,分别解剖出舌、咽喉、会厌等部位,苏木精-伊红(HE)未发现组织形态有异常,究其原因可能与猪存活的时间太短有关。这项研究虽未能达到预期的效果,但已经将 NPC 的相关基因运用到除转基因小鼠以外的动物模型上,进行了有意义的尝试,同时也为以后构建猪 NPC 模型提供了一些有价值的参考资料。

1.4 兔子、豚鼠 EBV 动物模型 有学者通过口腔接种 B95-8 细胞的细胞悬液入健康大白兔体内,虽然在接种之后 2 h 内观察到抗 EBV 衣壳抗原(viral capsid antigen, VCA)-IgG 及 EA-DR IgG 水平升高,但由于未能检测到其他感染迹象,也未见任何肿瘤的发生,尚不能认为这些兔子被 EBV 的病毒悬液成功感染^[35]。有研究通过对 7 只健康兔子进行静脉注射接种 EBV 的病毒悬液,结果在其中 6 只日本大白兔血清中检测到抗 EBV 相关抗体水平的升高;5 只外周血中检测到 EBV DNA 的存在;组织病理学检查发现其中 2 只兔子的脾脏及淋巴组织中的一些淋巴细胞表达了 EBV 编码的小 RNA1(EBV-encoded small RNA1, EBER1)及 EBV 相关蛋白,且这些淋巴细胞主要为 B 淋巴细胞^[36]。这一研究表明,EBV 可以通过静脉接种的方式感染兔子,但由于 EBV 与 NPC 关系密切,建立鼻腔或口腔接种 EBV 的动物模型对研究 EBV 及其致病机制显然更为必要。该团队也通过鼻腔结合口腔的方式对大白兔接种 EBV 的病毒悬液,结果与之前相似,10 只兔子中有 4 只在接种后成功感染了 EBV,在外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)中检测到 EBV 拷贝数升高及相关基因 mRNA 的表达,还检测出相关抗体水平的升高。病理学检查发现,其中 1 只兔子脾脏及淋巴组织中的淋巴结表达了 EBER1、LMP1 及 EBNA-2^[37]。之后,该团队又通过培养人 EBV 阳性的 B 淋巴瘤细胞(P3HR-1)获得 EBNA-2 缺失的 EBV,分别通过静脉注射($n=4$)及鼻腔接种($n=8$)的方式感染兔子,结果仅 2 只兔子 PBMCs 中检测到 EBV DNA 的存在及相关基因的表达。进而将这一结果与前期研究结果^[36-37]比较,证明从 B95-8 细胞中获得的标准 EBV 对兔子的感染率[91%(10/11)]比 EBNA-2 缺失的 EBV 高[17%(2/12)]。这一研究首次通过建立自然感染 EBV 的动物模型,阐明了 EBNA-2 在其感染机体中的作用^[38],具有重要的指导意义。Rajcáni 等^[39]通过鼻腔结合口腔的方式对兔子接种 EBV,结果显示感染了 EBV 的兔子体内相关抗体 Zta/BZLF1 IgG、早期抗原(EA)抗体 IgG、及 VCA IgG 水平均有上升,但 EBNA-1 IgG 水平始终未上升,并且也未能出现传染性单核细胞增多症的表现。由此说明,EBNA-1 在被感染的兔子体内缺失,并且兔子感染 EBV 与人类感染 EBV 所导致的机体反应不同。Khan 等^[40]通过静脉注射的方式对 6 只美国大白兔接种 EBV

的病毒悬液,结果 6 只兔子血清中都检测到抗 EBV 相关抗体 IgG 及 IgM 水平的升高,而 PBMCs 中 EBV DNA 只是短暂的被检测到;接种 EBV 10 周后,对这 6 只兔子进行持续 15 d 的环孢素 A(每日 20 mg/kg)肌肉注射以进行免疫抑制,在免疫抑制后,仍然存活的 4 只兔子 PBMCs 中很容易地检测到 EBV DNA 的存在及相关基因的表达,并观察到 EBV 拷贝数明显升高。对所有 4 只兔子进行大体解剖及病理学检查,发现其中 3 只兔子出现脾脏肿大,且在这 3 只兔子的脾脏及肝脏中均能检测到 EBER1、LMP1、EBNA-1 及 EBNA-2 的表达。这一研究再次证实了兔子对 EBV 的易感性,也表明被感染的淋巴细胞在免疫抑制的状态下能够增殖。以上研究分别通过不同的方式接种 EBV,静脉接种较口腔或鼻腔接种感染率更高,免疫抑制则能增加感染率,但无论是何种方式接种 EBV 的兔子模型,均未能检测到任何 EBV 相关恶性肿瘤或淋巴组织的增生。刘国超等^[41]分别通过静脉接种及鼻腔结合口腔接种 EBV 悬液的方式感染 20 只豚鼠建立动物模型,结果两种感染方式均出现抗 EBV 相关抗体 VCA-IgG 及 EBNA-IgG 水平的升高;鼻腔滴鼻结合口腔接种的 10 只豚鼠有 6 只检测到 EBV 相关基因的表达,而静脉接种的 10 只豚鼠均未见相关基因的表达;解剖豚鼠的腮腺、肺、脾脏、肝脏等器官组织进行病理切片分析结果显示,鼻腔结合口腔的 10 只豚鼠中有 5 只发生不同程度的病变,包括肺间质水肿、炎性细胞浸润等,而静脉接种的 10 只豚鼠中仅 1 只出现轻微的肝组织炎性细胞浸润。该学者首次应用豚鼠作为研究 EBV 的动物模型,尽管未能诱导出 EBV 相关肿瘤,也为研究 EBV 感染、预防及治疗其相关疾病提供了基础。

2 小结与展望

综上所述,国内外现有的 EBV 动物模型包括灵长类、SCID 小鼠、转基因动物,以及兔子和豚鼠 4 大类,这些动物模型在研究 EBV 感染、致病机制及预防治疗等方面有重要作用,但也存在着一些弊端。以往的实验中,新世界猴作为最接近人类的 EBV 动物模型,虽然已经取得了一定的成果,但是其作为 EBV 动物模型也具有局限性,因为这些动物都未能通过正常的口咽接种感染 EBV,或即使感染后也未能在体内病毒的持续存在下诱导出淋巴瘤。再加上新世界猴物种濒临灭绝,极其珍贵,以及保护政策、伦理学的要求限制了其在 EBV 动物模型中的继续使用,导致自 20 世纪 90 年代后 EBV 新世界猴动物模型的研究停滞不前。SCID 小鼠动物模型为 EBV 的研究提供了良好平台,尤其在研究 EBV 对机体免疫系统的影响方面有着重要的意义,但其为严重免疫缺陷个体,并不适合研究免疫系统正常个体 EBV 的感染及致病机制。而转基因动物模型的优点表现为这类动物模型能够靶向研究单个易感基因,对研究 EBV 的致病机制起到不可替代的作用,但直到目前,建立的 EBV 转基因动物模型无一例外的是针对局部致病机制及单个易感基因,不能模拟人的整体感染环境,这对研究由多种基因相互作用而致病的人类疾病是远远不够的。而兔子和豚鼠的模型虽然是 EBV 自然感染的动物模型,但其感染效果比较差,且作为低等哺乳类动物,与人类同源性相差甚远。虽能在分子细胞层次上对研究 EBV 提供极大帮助,但在研究人类特有的疾病方面,仍然有着不容忽视的缺陷。未来对于 EBV 的研究,如能在兔子及豚鼠自然感染 EBV 的基础上使用非人灵长类动物,将在整体水平上具有不可替代的优势。因此,建立一种在遗传特征、生理解剖及病毒感染特性等方面与灵长类甚至人类之间相似性更高的动物模型,成为近年来研究 EBV 及其相关

疾病的迫切要求。在现有的研究基础上,建立一种非人灵长类的 EBV 动物模型,将为研究 EBV 感染人体的机制、致病机制,以及预防与治疗相关疾病打下坚实的基础。

参考文献

- [1] Sun L, Che K, Zhao Z, et al. Sequence analysis of Epstein-Barr virus (EBV) early genes BARF1 and BHRF1 in NK/T cell lymphoma from Northern China[J]. *Virology*, 2015, 12(1):135.
- [2] Cohen, JI. Epstein-Barr virus vaccines[J]. *Clin Transl Immunology*, 2015, 4(1):e32.
- [3] Takashima K, Ohashi M, Kitamura Y, et al. A new animal model for primary and persistent Epstein-Barr virus infection: human EBV-infected rabbit characteristics determined using sequential imaging and pathological analysis[J]. *J Med Virol*, 2008, 80(3):455-466.
- [4] Kanai K, Kato K, Sano H, et al. In vitro Epstein-Barr virus infection model of rabbit lymphocytes from peripheral blood or spleen[J]. *Intervirology*, 2011, 54(1):17-24.
- [5] Niedobitek G, Agathangelou A, Finerty S, et al. Latent Epstein-Barr virus infection in cottontop tamarins. A possible model for Epstein-Barr virus infection in humans[J]. *Am J Pathol*, 1994, 145(4):969-978.
- [6] Cleary ML, Epstein MA, Finerty S, et al. Individual tumors of multifocal EB virus-induced malignant lymphomas in tamarins arise from different B-cell clones[J]. *Science*, 1985, 228(4700):722-724.
- [7] Gregorovic G, Bosshard R, Karstegl CE, et al. Cellular gene expression that correlates with EBER expression in Epstein-Barr Virus-Infected lymphoblastoid cell lines[J]. *J Virol*, 2011, 85(7):3535-3545.
- [8] Mosier DE, Gulizia RJ, Baird SM, et al. Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency[J]. *Nature*, 1988, 335(6187):256-259.
- [9] Melkus MW, Estes JD, Padgett-Thomas AA, et al. Humanized mice mount specific adaptive and innate immune responses to EBV and TSST-1[J]. *Nat Med*, 2006, 12(11):1316-1322.
- [10] 辜芳, 罗晓明, 张勤, 等. EB 病毒相关 SCID 鼠淋巴瘤模型的建立//2011 年浙江省医学会儿科学分会学术年会暨儿内科学疾病诊治新进展国家级学习班论文汇编[C]. 杭州, 浙江省科学技术协会, 2011.
- [11] 张彦, 冯哲玲, 熊建军, 等. 淋巴母细胞端粒酶活性和成瘤性的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2010, 2(3):156-159.
- [12] Covassin L, Laning J, Abdi R, et al. Human peripheral blood CD4 T cell-engrafted non-obese diabetic-scid IL2r gamma(null) H2-Ab1 (tm1Gru) Tg (human leucocyte antigen D-related 4) mice: a mouse model of human allogeneic graft-versus-host disease[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 166(2):269-280.
- [13] Kong J, Sai H, Crissey MA, et al. Immature myeloid progenitors promote disease progression in a mouse model of Barrett's-like metaplasia[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32):

32980-33005.

- [14] Münz C. EBV infection of mice with reconstituted human immune system components[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015, 161(1): 118-124.
- [15] 罗春艳, 贺荣芳, 唐运莲, 等. EB 病毒诱发淋巴瘤中 LMP 的表达[J]. *中国癌症杂志*, 2011, 21(10): 760-765.
- [16] Ma SD, Hegde S, Young KH, et al. A new model of Epstein-Barr virus infection reveals an important role for early lytic viral protein expression in the development of lymphomas[J]. *J Virol*, 2011, 85(1): 165-177.
- [17] Chijioke O, Müller A, Feederle R, et al. Human natural killer cells prevent infectious mononucleosis features by targeting lytic Epstein-Barr virus infection[J]. *Cell Rep*, 2013, 5(6): 1489-1498.
- [18] Hartlage AS, Liu T, Patton JT, et al. The Epstein-Barr virus lytic protein BZLF1 as a candidate target antigen for vaccine development[J]. *Cancer immunology research*, 2015, 3(7): 787-794.
- [19] Hussain M, Gatherer D, Wilson JB. Modelling the structure of full-length Epstein-Barr virus nuclear antigen 1[J]. *Virus Genes*, 2014, 49(3): 358-372.
- [20] Hannigan A, Qureshi AM, Nixon C, et al. Lymphocyte deficiency limits Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induced chronic inflammation and carcinogenic pathology in vivo[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10(1): 11.
- [21] 张修彦, 詹纯列, 张晓玉. 制备转基因模型小鼠的基础: 人白细胞抗原 A0206 基因慢病毒载体构建及鉴定[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(24): 3813-3817.
- [22] 康爱君, 郭长占, 田枫, 等. EB 病毒转基因小鼠血生化及白细胞分类的观察[J]. *实验动物科学*, 2010, 27(1): 1-4.
- [23] 康爱君, 郭长占, 田枫, 等. EB 病毒膜抗原的表达与 IL-6 和 TNF- α 水平相关性研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(8): 225-227.
- [24] Ontiveros EP, Halwani A, Stunz LL, et al. A new model of LMP1-MYC interaction in B cell lymphoma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(12): 2917-2923.
- [25] Shair KH, Raab-Traub N. Transcriptome changes induced by Epstein-Barr virus LMP1 and LMP2A in transgenic lymphocytes and lymphoma [J]. *MBio*, 2012, 3(5): e00288-00312.
- [26] Quatromoni JG, Predina JD, Bhojnagarwala PA, et al. Adenoviral-Based immunotherapy provides local disease control in an orthotopic murine model of esophageal cancer [J]. *J Immunother*, 2014, 37(5): 283-292.
- [27] Pan W, Jin Y, Chen J, et al. Ectopic expression of activated notch or SOX2 reveals similar and unique roles in the development of the sensory cell progenitors in the mammalian inner ear [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(41): 16146-16157.
- [28] 何迎春, 田道法, 卢芳国, 等. 人突变型 p53 和 EB 病毒 LMP1 转基因小鼠的建立[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(1): 6-9.
- [29] Haan KM, Aiyar A, Longnecker R. A aiyar and R longnecker, establishment of latent Epstein-Barr virus infection and stable episomal maintenance in murine b-cell lines[J]. *J Virol*, 2001, 75(6): 3016-3020.
- [30] Rosato P, Anastasiadou E, Garg N, et al. Differential regulation of miR-21 and miR-146a by Epstein-Barr virus-encoded EBNA2[J]. *Leukemia*, 2012, 26(11): 2343-2352.
- [31] 冯湘玲, 蓝轲, 张玲, 等. 一种快速检测启动子特异性的方法[J]. *生命科学研究*, 2001, 5(4): 339-341.
- [32] Chang RA, Miller SD, Longnecker R. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis and enhances antigen presentation function[J]. *Sci Rep*, 2011, 2(14): 353.
- [33] Vrazo AC, Chauchard M, Raab-Traub N, et al. Epstein-Barr virus LMP2A reduces hyperactivation induced by LMP1 to restore normal B cell phenotype in transgenic mice[J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(4): e1002662.
- [34] 黄海城. EBV 感染相关的猪鼻咽癌模型的构建[D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
- [35] Hayashi K, Jin Z, Onoda S, et al. Rabbit model for human EBV-associated hemophagocytic syndrome (HPS): sequential autopsy analysis and characterization of IL-2-dependent cell lines established from herpesvirus papio-induced fatal rabbit lymphoproliferative diseases with HPS [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(5): 1721-1736.
- [36] Dunmire SK, Hogquist KA, Balfour HH. Infectious Mononucleosis[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015, 390(Pt 1): 211-240.
- [37] Okuno K, Takashima K, Kanai K, et al. Epstein-Barr virus can infect rabbits by the intranasal or peroral route: an animal model for natural primary EBV infection in humans[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(6): 977-986.
- [38] Sano H, Nagata K, Kato K, et al. EBNA-2-deleted Epstein-Barr virus from P3HR-1 can infect rabbits with lower efficiency than prototype Epstein-Barr virus from B95-8[J]. *Intervirology*, 2013, 56(2): 114-121.
- [39] Rajcáni J, Szenthe K, Durmanová V, et al. Epstein-Barr virus(HHV-4) inoculation to rabbits by intranasal and oral routes results in subacute and/or persistent infection dissimilar to human disease [J]. *Intervirology*, 2014, 57(5): 254-269.
- [40] Khan G, Ahmed W, Philip PS, et al. Healthy rabbits are susceptible to Epstein-Barr virus infection and infected cells proliferate in immunosuppressed animals[J]. *J Virol*, 2015, 12(1): 1-13.
- [41] 刘国超, 张晶, 孙晓梅, 等. 豚鼠对 EB 病毒的易感性分析[J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(11): 1439-1443.