

一例干扰素受体缺失小鼠自发未成熟型睾丸畸胎瘤诊断

赵 赫, 张 帆, 肖宇宙, 安学芳, 张 涛, 李 丽

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430070)

[摘要] 目的 观察干扰素受体缺失小鼠 (AG129) 睾丸自发性肿瘤, 为该品系小鼠的应用研究提供依据。方法 AG129 小鼠种群饲养于 SPF 屏障环境中, 正常饲养繁殖, 在离乳的 3 周龄小鼠中发现其中一只雄性小鼠睾丸异常肿大, 同窝内其他小鼠无相似情况, 对该例小鼠自发的睾丸肿瘤进行持续观察, 于 9 周龄时对小鼠安乐死, 并解剖, 观察肿瘤组织大体形态并取材, 肿瘤组织经石蜡切片后进行 HE 染色。结果 小鼠经过持续数周观察发现, 肿瘤组织随小鼠日龄增长逐渐增大; 解剖后肿瘤组织被包囊包裹, 表面光滑, 切开包囊后, 肿瘤内组织形态不规则, 部分质地坚硬, 部分柔软; HE 染色结果显示, 肿瘤组织由多胚层组织发育而成, 内部有神经组织、骨组织、肌肉组织和脂肪组织等, 形态结构不规则。结论 结合肿瘤发生发展, 大体形态结构, 病理切片 HE 染色结果, 初步诊断该例小鼠睾丸肿块为小鼠未成熟型畸胎瘤。

[关键词] 干扰素受体; 小鼠; 睾丸; 未成熟型畸胎瘤

[中图分类号] R737; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)06-0691-04



Preliminary Diagnosis and Characterization of a Spontaneous Immature Testicular Teratoma in an Interferon Receptor-Deficient Mouse Model

ZHAO He, ZHANG Fan, XIAO Yuzhou, AN Xuefang, ZHANG Tao, LI Li

(Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430070, China)

Correspondence to: ZHANG Fan (ORCID: 0009-0002-4393-3081), E-mail: zhangf@wh.iov.cn

[ABSTRACT] **Objective** To observe the spontaneous testicular tumors in interferon receptor-deficient mice (AG129) and provide a basis for further research using this mouse strain. **Methods** The AG129 mouse population was bred in an SPF barrier environment and reproduced normally. Among the 3-week-old weaned mice, we found that one male mouse had an abnormally enlarged testis, while none of the other mice in the same litter exhibited a similar condition. The spontaneous testicular tumor in this mouse was continuously monitored. The mouse was euthanized and dissected at 9 weeks of age. The gross morphology of the tumor was observed, and the tissue was then embedded in paraffin and sectioned for hematoxylin and eosin (HE) staining. **Results** After several weeks of observation, the tumor tissue gradually increased in size as the mice aged. Upon dissection, the tumor tissue was encapsulated in a smooth capsule. After opening the capsule, the tumor tissue was irregular in shape, with some areas being hard and others soft. The results of HE staining showed that the tumor tissue developed from tissues derived from multiple germ layers, with nerve tissue, bone tissue, muscle tissue, and adipose tissue inside, exhibiting an irregular morphological structure. **Conclusion** Based on the tumor development, gross morphological structure, and the HE staining results of the pathological sections, the tumor in this mouse was preliminarily diagnosed as an immature teratoma.

[Key words] Interferon receptor; Mouse; Testicle; Immature teratoma

[基金项目] 国家重点研发计划项目“基于新靶点的重大传染病人源化动物模型研发”(2021YFF0702000); 湖北省科技厅项目“实验动物生物安全标准化建设”(2022DFE023)

[第一作者] 赵 赫(1987—), 男, 硕士, 实验师, 主要从事基因工程小鼠管理工作。E-mail: zhaohe@wh.iov.cn

[通信作者] 张 帆(1985—), 男, 硕士, 高级实验师, 主要从事实验动物质量控制与管理工作。E-mail: zhangf@wh.iov.cn。ORCID: 0009-0002-4393-3081

干扰素是一类重要的免疫细胞因子,其本质是由白细胞、成纤维细胞和淋巴细胞等免疫细胞分泌的多功能活性蛋白^[1]。干扰素通过与细胞表面受体(即干扰素受体)相互作用,诱导细胞表达具有抗病毒作用的活性蛋白,从而达到抗病毒的效果^[2]。AG129小鼠是人为构建的干扰素受体缺失基因工程小鼠品系,这种小鼠体内的干扰素无法通过与受体结合来刺激细胞产生抗病毒蛋白,在感染性疾病动物模型复制中表现易感且呈现出符合临床症状的病理特征^[3]。因此,AG129小鼠已被用于建立感染性动物模型以及抗病毒药物的筛选与评价等方面^[4]。在繁殖性能方面,雌性AG129小鼠妊娠期为21 d左右,哺乳期也为21 d左右,与野生型雌性小鼠一致;而雄鼠AG129小鼠体成熟稍晚,雌鼠窝产仔数要低于正常野生型小鼠^[5]。AG129小鼠在生产繁育过程中偶见异常肿瘤发生,具体发生率未做统计。

1 病例资料

AG129小鼠^[6]的繁殖与保种于中国科学院武汉病毒研究所实验动物中心[SYXK(鄂)2022-0131]屏障环境中开展,小鼠种群规模有150只左右。工作人员于生产后21 d离乳时在一繁殖笼的6只小鼠(2♀,4♂)中发现本病例。该病例系雄鼠,初步表现为单侧睾丸异常肿大,同窝其他小鼠未见明显异常。在后续饲养过程中观察发现,小鼠肿大部位的体积随周龄增大而持续增长。9周龄时小鼠行动能力已受到明显影响。为明确小鼠出现异常的原因,保障屏障内动物质量和动物福利,以及防止环境污染,工作人员对异常小鼠实施安乐死。同时对同笼架哨兵鼠进行微生物和寄生虫检测,检测结果均符合国家SPF级动物标准。

本实验中所有操作均符合中国科学院武汉病毒研究所实验动物相关管理制度和福利要求,并通过实验动物伦理审查(WIVA30202402)。

2 诊断方法

使用异氟烷气体麻醉小鼠后,以颈椎脱臼法实施安乐死。解剖睾丸肿大处观察并对肿块进行取材,置于10%体积分数的甲醛溶液中固定。固定一周后进行常规石蜡切片、HE染色及生物光学显微镜观察,观察结果使用NIS-Elements高清晰度彩色图文分析系统进行图片采集。

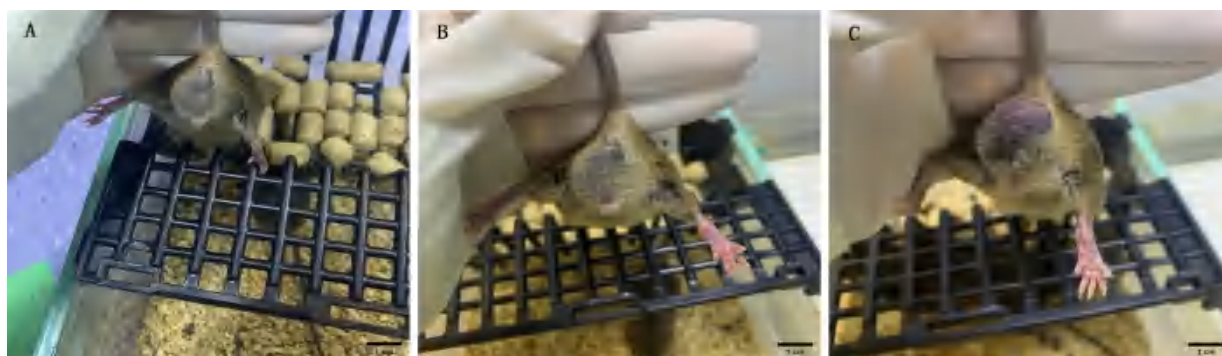
3 诊断结果

3.1 大体眼观病变

该病例发现后继续进行跟踪观察,分别于4周龄、6周龄、8周龄采集在体外观图片(图1),9周龄时对小鼠进行安乐死。打开肿瘤部位皮肤,内有一边界清晰且具有囊性包膜的肿块,包膜内液体呈黄褐色,内部组织不规则。剪开包膜,内有结缔组织、脂肪组织等,有韧带连接至腹腔内。肿块质地不均匀,部分柔软,部分坚硬(图2)。仅对瘤体组织进行取材,未观察其他部分发生情况。

3.2 组织病理学观察

HE染色结果显示,瘤体组织由多种组织细胞组成,可见大量血管和结缔组织(图3A);视野中央有钙化组织,周围分布有骨组织,骨组织周围包裹有大量的脂肪细胞(图3B);可见神经细胞(黑色箭头指示位置)以及上皮组织(图3C),并有散在的肌肉组织和腺泡细胞(图3D)。

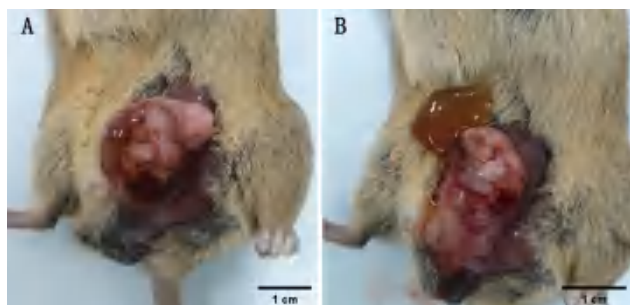


注: A, 4周龄时大小; B, 6周龄时大小; C, 8周龄时大小。

Note: A, Tumor size at 4 weeks of age; B, Tumor size at 6 weeks of age; C, Tumor size at 8 weeks of age.

图1 小鼠肿瘤在体外观的生长变化

Figure 1 Growth changes of the tumor in the mouse

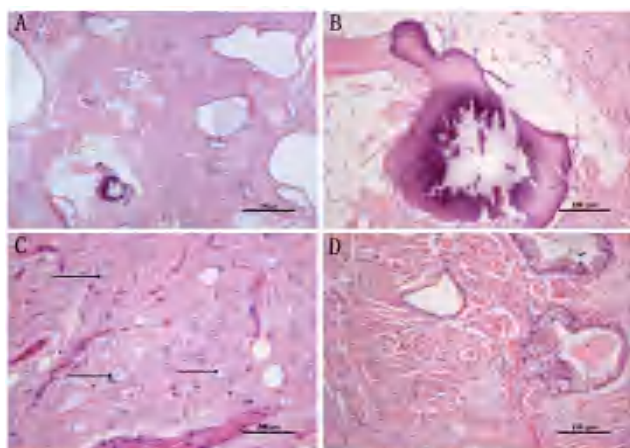


注：A，瘤体囊性组织结构；B，瘤体实体组织结构。

Note: A, Cystic tissue structure of the tumor; B, Solid tissue structure of the tumor.

图2 小鼠肿瘤大体解剖观察

Figure 2 General anatomical observation of the tumor in the mouse



注：A，结缔组织（标尺=500 μm）；B，骨组织（标尺=100 μm）；C，神经组织（标尺=50 μm），黑色箭头指示部分神经细胞位置；D，肌肉组织（标尺=100 μm）。

Note: A, Connective tissue ($\times 40$, scale bar = 500 μm); B, Bone tissue ($\times 100$, scale bar = 100 μm); C, Nerve tissue ($\times 400$, scale bar = 50 μm), with the black arrow indicating the location of nerve cells; D, Muscle tissue ($\times 100$, scale bar = 100 μm).

图3 小鼠肿瘤组织学观察(HE染色)

Figure 3 Histological observation of the tumor in the mouse (HE staining)

3.3 诊断结果

通过大体解剖和病理组织切片观察，初步诊断该病例为小鼠未成熟型睾丸畸胎瘤。

4 讨论

畸胎瘤是一种结构复杂的肿瘤，一般由多个胚层发育的组织组成，组织内包括外胚层组织（表皮和神经系统）、中胚层组织（骨骼系统和肌肉组织）和内胚层组织（消化腺和呼吸系统）。其主要发生在性腺部位，如卵巢畸胎瘤和睾丸畸胎瘤；其他非性腺部位也

偶有发生，如前纵隔、胃肠道和头颈部。根据肿瘤细胞的分化程度可以分为成熟型畸胎瘤和未成熟型畸胎瘤，成熟型大多为良性肿瘤，未成熟型较少见且一般为恶性肿瘤^[7]。

在不同物种之间，畸胎瘤发生率有所不同。在犬^[8]、豚鼠^[9]中比较常见，但在马^[10]和牛^[11]中的相关报道则较少；在猫中的报道一般发生在性腺内单侧，性腺外的较少，睾丸畸胎瘤病例较少^[12-13]；在野生动物中也有相关报道，如雪貂^[14]。在小鼠中，多种品系小鼠均有发生畸胎瘤的报道，有的发生在性腺内，有的发生在性腺外。性腺内的畸胎瘤，如在C3H、C3HeB、Swiss小鼠以及FVB/n^[15]等品系中有关于卵巢畸胎瘤的案例报道；ICR^[16]、A/HeJ、DBA/2J、129等品系有关于自发性睾丸畸胎瘤的案例报道。129/terSV小鼠高发睾丸畸胎瘤，并且大部分发生在左侧睾丸^[17]。性腺外畸胎瘤，如眼内畸胎瘤，曾在B6.129S2-Trp53tm1Tyj品系小鼠中有报道^[18]。在大部分报道的畸胎瘤中，一般为良性肿瘤也就是成熟型畸胎瘤。除自发性睾丸畸胎瘤外，也可以人工诱导睾丸畸胎瘤的发生，使用的是129/SvJ品系小鼠，成功率可达29%^[19]。国内关于小鼠自发睾丸畸胎瘤的报道较少^[20-21]，本病例中肿瘤发生于小鼠幼龄期，且肿瘤大小随年龄增长而逐渐增大，影响小鼠的生活状态和生产性能。安乐死后经组织学检查可在肿瘤中观察到神经组织、肌肉组织、上皮组织以及骨组织等，符合畸胎瘤的特征，这是国内首次关于该品系自发性睾丸畸胎瘤的报道。但本研究中也存在不足之处，例如：由于缺少病例分析经验，诊断中只侧重观察了瘤体组织，忽略了其他部位组织器官的病理观察；同时由于仪器设备的欠缺未能完成血液生化 and 影像学检测及诊断。如在后续的生产繁育中如发现相似病例，将进行进一步研究。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究所涉及的所有动物实验方案均已通过中国科学院武汉病毒研究所生命科学研究伦理审查委员会批准（批号WIVA30202402），所有实验操作均按照中国科学院武汉病毒研究所实验动物中心标准操作规程进行，遵照中国实验动物相关法律法规条例要求。

All animal experimental protocols involved in this study have been approved by the Institutional Review Board of Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences (Approval No. WIVA30202402), and all experimental operations have been carried out in accordance with the standard operating procedures of the Experimental Animal Center, and in compliance with the requirements of the relevant laws and regulations on experimental animals in China.

[作者贡献 Author Contribution]

赵赫负责实验操作和初稿写作;
张帆负责实验方案设计并获取项目资助;
肖宇宙负责实验数据采集和图片处理;
安学芳负责实验监督和写作指导;
张涛、李丽参与方案设计并提供文献及实验试剂。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] 孙亚萍, 王英明, 乔守怡. 干扰素及其最新研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(7): 676-679. DOI: CNKI:SUN:ZMXZ.0.2006-07-021.
SUN Y P, WANG Y M, QIAO S Y. Interferon and its latest research progress[J]. Chin J Immunol, 2006, 22(7): 676-679. DOI: CNKI:SUN:ZMXZ.0.2006-07-021.
- [2] 李军, 曾芸. 病毒诱导 I 型干扰素产生的机制[J]. 生命的化学, 2006, 26(5): 395-398. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-1336.2006.05.004.
LI J, ZENG Y. The mechanism of induction of type I interferons by virus[J]. Chem Life, 2006, 26(5): 395-398. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1336.2006.05.004.
- [3] 吴文煜, 韩梅芳. 干扰素信号通路对病毒性肝炎抗病毒疗效的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(3): 261-263. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2016.03.002.
WU W Y, HAN M F. Impact of interferon signal tunnel on antiviral efficacy of patients with viral hepatitis[J]. J Pract Hepatol, 2016, 19(3): 261-263. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-5069. 2016.03.002.
- [4] 张帆, 安学芳, 赵赫, 等. I 型干扰素受体缺失小鼠体外受精实验研究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3): 351-357. DOI: 10.3969/j. issn.1005-4847.2020.03.009.
ZHANG F, AN X F, ZHAO H, et al. *In vitro* fertilization using type I interferon receptor-deficient mice[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2020, 28(3): 351-357. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.03.009.
- [5] 张帆, 安学芳, 赵赫, 等. 还原型谷胱甘肽在 AG129 小鼠生物净化及快速繁殖中的应用[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 96-99. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.014.
ZHANG F, AN X F, ZHAO H, et al. Application of reduced glutathione in biological purification and rapid propagation of AG129 mice[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2020, 28(1): 96-99. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.014.
- [6] LI N, DENG C L, LI Q, et al. A safe replication-defective Zika virus vaccine protects mice from viral infection and vertical transmission[J]. Antiviral Res, 2023, 211: 105549. DOI: 10.1016/j. antiviral.2023.105549.
- [7] SABA, GUERRIERO S, SULCIS R, et al. Mature and immature ovarian teratomas: CT, US and MR imaging characteristics[J]. Eur J Radiol, 2009, 72(3): 454-463. DOI: 10.1016/j. ejrad. 2008. 07.044.
- [8] AGNEW D W, MACLACHLAN N J. Tumors of the genital systems[M]//MEUTEN D J. Tumors in Domestic Animals. 5th ed. New York: Wiley, 2016: 689-722. DOI: 10.1002/ 9781119181200.ch16.
- [9] BARTHOLD S W, GRIFFEY S M, PERCY D H. Pathology of laboratory rodents and rabbits[M]. 4th ed. New York: Wiley, 2016: 213-252. DOI: 10.1002/9781118924051.
- [10] CHARLES L N. Metastatic ovarian teratocarcinoma in a horse [J]. J Comp Pathol, 2020, 181: 68-72. DOI: 10.1016/j. jcpa.2020.10.002.
- [11] CARLUCCIO A, ZEDDA M T, CONTRI A, et al. Immature ovarian teratoma in two heifers[J]. Vet Ital, 2017, 53(4): 327-330. DOI: 10.12834/VetIt.738.3603.2.
- [12] MACHIDA Y, MICHISHITA M, WADA M, et al. Malignant oestrogen-producing teratoma in a cat[J]. J Comp Pathol, 2017, 156(2-3): 178-182. DOI: 10.1016/j.jcpa.2016.11.273.
- [13] NAGUMO T, YOSHII R, UZUKA Y, et al. Computed tomographic characteristics of testicular teratoma in a cat [J]. Vet Radiol Ultrasound, 2024, 65(5): 496-500. DOI: 10.1111/ vru.13380.
- [14] FIDDES K R, MURRAY J, WILLIAMS B H. Testicular Teratocarcinoma in a Ferret (*Mustela putorius furo*) [J]. J Comp Pathol, 2020, 181: 63-67. DOI: 10.1016/j.jcpa.2020.09.017.
- [15] DE OLIVEIRA P A M, FAUSTINO-ROCHA A I, DA COSTA R M G, et al. A spontaneous ovarian teratoma in an FVB/n female mouse: case report and literature review[J]. Open Vet J, 2023, 13(9): 1223-1227. DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i9.19.
- [16] TANI Y, MURATA S, MAEDA N, et al. A spontaneous testicular teratoma in an ICR mouse[J]. Toxicol Pathol, 1997, 25(3): 317-320. DOI: 10.1177/019262339702500309.
- [17] BUSTAMANTE-MARIN X M, CAPEL B. Oxygen availability influences the incidence of testicular teratoma in *Dnd1Ter*⁺ mice[J]. Front Genet, 2023, 14: 1179256. DOI: 10.3389/ fgene.2023.1179256.
- [18] SMITH R S, MILLER J V, SUNDBERG J P. Intraocular teratoma in a mouse[J]. Comp Med, 2002, 52(1): 68-72. DOI: 10.1053/ svms.2002.30835.
- [19] SUNDSTRÖM J, PELLINIEMI L J, KUOPIO T, et al. Characterization of the model for experimental testicular teratoma in 129/SvJ-mice[J]. Br J Cancer, 1999, 80(1-2): 149-160. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690334.
- [20] 孙慧, 宁连胜, 韩宝国. 小鼠自发卵巢恶性畸胎瘤: 一例报告[J]. 实验动物科学, 1989, 20(2): 8-9. DOI: CNKI:SUN:SYDG.0.1989-02-002.
SUN H, NING L S, HAN B G. Spontaneous malignant ovarian teratoma in mice: a case report[J]. Lab Anim Sci, 1989, 20(2): 8-9. DOI: CNKI:SUN:SYDG.0.1989-02-002.
- [21] 高亚奇, 陈伟盛, 梁宁, 等. 一例小鼠自发性成熟型畸胎瘤[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(5): 405-407. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2019.05.013.
GAO Y Q, CHEN W S, LIANG N, et al. A case of spontaneous mature teratoma in mice[J]. Lab Anim Comp Med, 2019, 39(5): 405-407. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2019.05.013.

(收稿日期: 2024-05-20 修回日期: 2024-10-10)

(本文编辑: 翟玉凤, 富群华, 丁宇菁, 张萍)

[引用本文]

赵赫, 张帆, 肖宇宙, 等. 一例干扰素受体缺失小鼠自发未成熟型睾丸畸胎瘤诊断[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(6): 691-694. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.070.
ZHAO H, ZHANG F, XIAO Y Z, et al. Preliminary diagnosis and characterization of a spontaneous immature testicular teratoma in an interferon receptor-deficient mouse[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(6): 691-694. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.070.