

刘瑞洁,杨贵波. 恒河猴生殖道Ⅲ型干扰素表达的初步研究 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(3): 365-373.

LIU R J, YANG G B. Preliminary study of type Ⅲ interferon expression in the genital tract of rhesus macaques [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(3): 365-373.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.03.005

恒河猴生殖道Ⅲ型干扰素表达的初步研究

刘瑞洁,杨贵波*

(中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心,北京 102206)

【摘要】 目的 为了阐述恒河猴Ⅲ型干扰素 (IFNL) 系统的生物学特征,促进恒河猴在感染性疾病的病理、药物和疫苗研究中的应用,本文对恒河猴生殖道 IFNL 及 IFNLR1 的表达进行了研究。**方法** 建立基因特异的 RT-PCR 方法,对正常和 SHIV/SIV 感染过的恒河猴生殖道组织中 IFNL1、IFNL3 和 IFNLR1 mRNA 的表达进行观察,利用共聚焦显微术对 IFNLR1 的组织分布进行观察。**结果** 对正常恒河猴阴道和子宫组织的 RT-PCR 检测未见明确的 IFNL1 和 IFNL3 mRNA 扩增条带,但可明确检测到 IFNLR1 的 mRNA 和缺失第 6 个外显子的变体;IFNLR1 阳性染色主要位于阴道黏膜上皮和子宫内膜被覆上皮及腺上皮中。在部分 SHIV/SIV 感染个体中,IFNL1 和 IFNL3 的 mRNA 水平明显增高,而 IFNLR1 的 mRNA 水平几乎没有变化;但 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 等干扰素刺激基因的 mRNA 水平显著升高。**结论** 本研究数据表明恒河猴生殖道可表达 IFNL1、IFNL3 和 IFNLR1,为利用恒河猴开展艾滋病等人类生殖道感染疾病研究提供了基础。

【关键词】 恒河猴;Ⅲ型干扰素;生殖道;免疫缺陷病毒感染

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 03-0365-09

Preliminary study of type Ⅲ interferon expression in the genital tract of rhesus macaques

LIU Ruijie, YANG Guibo*

(National Center for AIDS/STD Control and Prevention, China-CDC, Beijing 102206, China)

Corresponding author: YANG Guibo. E-mail: guiboyang@chinaaids.cn

【Abstract】 Objective To determine the expression of type Ⅲ interferon (IFNL) and IFNL receptor 1 (IFNLR1) in the genital tract in rhesus macaques to elucidate the biological characteristics of rhesus macaque IFNL system and promote the use of these monkeys in studies on the pathology, drugs and vaccines for human diseases. **Methods** IFNL1, IFNL3, and IFNLR1 mRNA levels in normal and simian-human immunodeficiency virus (SHIV)/simian immunodeficiency virus (SIV)-infected genital tract tissues of rhesus macaques were detected by gene-specific reverse transcription-polymerase chain reaction, and IFNLR1 immunoreactivity was examined by confocal microscopy. **Results** IFNL1 and IFNL3 mRNA levels in the uterus and vagina in normal rhesus macaques were below the measurement threshold, but mRNA levels of IFNLR1 and its variant lacking exon 6 could be readily detected. IFNLR1 immunoreactivity was primarily detected in the covering or glandular epithelia of the uterus and vagina. IFNL1 and IFNL3 mRNA levels were increased in some SHIV/SIV-infected macaques, while mRNA levels of IFNLR1 were unchanged and mRNA levels of IFN-stimulated genes (*Mx1*, *Mx2*, and *OAS*) were significantly

【基金项目】 国家自然科学基金(81571607)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (81571607).

【作者简介】 刘瑞洁,女,在读博士研究生,研究方向:免疫学与艾滋病。Email:13938748111@163.com

【通信作者】 杨贵波,男,博士,研究员,研究方向:神经内分泌免疫、黏膜免疫与艾滋病。Email:guiboyang@chinaaids.cn

increased. **Conclusions** These data indicate that the type III IFN system is expressed in the reproductive tract of rhesus macaques, as in humans, thus providing a scientific basis for the use of rhesus macaques in studies of human infectious diseases, such as AIDS.

【Keywords】 rhesus macaque; tract III interferon; genital type; immunodeficiency virus infection

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

恒河猴在人体感染性疾病,如艾滋病的病理、药物和疫苗研究中发挥了重要的作用^[1-3]。干扰素-λ(interferon-lambda, IFNL) 又称 III 型干扰素,是 2003 年发现的干扰素家族新成员,在抗病毒、细菌和真菌感染免疫中具有重要的作用^[4]。迄今已知干扰素超家族包括 I 型、II 型和 III 型干扰素;其中人 III 型干扰素包含 IFNL1、IFNL2、IFNL3 和 IFNL4 四个成员。虽然 IFNL 与 I 型干扰素具有相似的抗病毒和抗肿瘤活性,但由于在基因表达调控、受体分布和功能活性等方面的独有特性,如 IFNL 的体内活性主要作用于上皮组织等,IFNL 受到了研究者的特别重视^[5-6]。目前虽然对人体和小鼠 III 型干扰素的研究已有许多,但关于恒河猴 III 型干扰素的研究报道甚少。

IFNL 可以被病毒、细菌和真菌感染诱导表达,通过其受体(interferon-lambda receptor 1, IFNLR1) 激活干扰素诱导基因(interferon stimulated genes, ISGs) 表达发挥抗感染作用^[7-8]。生殖道是性传播疾病,如艾滋病病原体感染发生的主要部位^[9]。目前对生殖道中 IFNL 表达的研究报道甚少。然而现有研究表明 IFNL 在胎盘抗病毒感染中具有保护作用,而 I 型干扰素则可能对胎盘造成损伤。胎盘滋养层细胞组成性地表达 III 型干扰素,正常原代人胎盘滋养层细胞提取液对寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)、风疹病毒和单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1) 等多种病毒具有抗病毒活性^[10-11]。使用 IFNL1 和 IFNL3 处理人妊娠中期的胎盘膜和蜕膜组织可抑制 ZIKV 感染,且用 IFNL2 处理孕鼠能够抑制孕鼠子宫中的 ZIKV 向胎鼠的垂直传播^[12-13]。表明 IFNL 在生殖道免疫中可能具有重要的作用,对生殖道各种组织中 IFNL 系统成分表达的系统研究将有助于全面认识 IFNL 在生殖系统抗感染免疫中的作用。

恒河猴与人类十分相似,因而在人类疾病研究中被广泛使用。多年来本课题组致力于恒河

猴黏膜免疫系统的研究,曾经对多种恒河猴黏膜免疫分子,如 IL-17、IL-22 和 MadCAM-1 等的表达进行过观察^[14-17]。鉴于 IFNL 在黏膜免疫系统中的独特作用和潜在应用前景以及恒河猴在相关转化研究中的特殊作用,本课题开展了对恒河猴干扰素系统的研究^[18]。本研究报道对正常和免疫缺陷病毒感染恒河猴生殖道黏膜组织中 IFNL 和 IFNLR1 表达的初步研究,旨在引起更多研究人员的重视、促进对恒河猴黏膜免疫系统的深入研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物组织

本研究所使用的恒河猴子宫和阴道组织均是课题组早期研究中冻存样本。正常组织来自 5 只成年雌性恒河猴,组织样本编号为:1、3、11、15、16,采样时无已知疾病且无可见的病理变化。感染组织来自 5 只 SHIV/SIV 感染雌性恒河猴,组织样本编号为:7、12、21、25、31,已在早期论文中对这些动物进行过描述^[17,19-20]。

1.1.2 主要试剂与仪器

RNAprep Pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司, DP431), PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver. 2 (TaKaRa, RR055A), Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0 plus dye) (TaKaRa, RR902Q), Triton X-100(碧云天生物技术公司, ST1723), 鱼皮胶(来源于冷水鱼类的皮肤)(Sigma, G7765), PBS 磷酸盐缓冲液(北京索莱宝科技有限公司, P1010), 山羊血清(碧云天生物技术公司, C0265), Anti-IFNLR1 (Atlas, HPA017319), 山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor® 568) 预吸附二抗 (Abcam, ab175695), DAPI 染色液(碧云天生物技术公司, C1006), 抗荧光淬灭封片剂(碧云天生物技术公司, P0126)。PCR 扩增仪(Bio-Rad, 美

国), Amersham Imager 600 化学发光成像仪 (Cytiva, 美国), 冰冻切片机 (Leica, 德国), 激光扫描共聚焦显微镜 (Olympus, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 组织总 RNA 提取

根据 RNeasy Pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书提取正常及感染个体子宫体、子宫颈和阴道组织中的总 RNA, 然后将得到的 RNA 提取液进行分装, 置于-80 ℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 建立 RT-PCR 方法

参照 NCBI 预测的恒河猴 IFNL1、IFNL3、IFNLR1、Mx1、Mx2 和 OAS2 的基因序列设计特异性引物, 以所提取的组织总 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增, 并同时扩增 GAPDH mRNA 为参照。Mx1、Mx2、OAS2 和 GAPDH 的 mRNA 扩增使用一步 RT-PCR 法, IFNL1、IFNL3 和 IFNLR1 的 mRNA 扩增使用套式 PCR 法。一步 RT-PCR 法和套式 PCR 法的第一步根据 PrimeScript™ One Step RT-

PCR Kit Ver. 2 试剂说明书配置体系, 程序: (1) 50 ℃ 30 min (× 1); (2) 94 ℃ 2 min (× 1); (3) 94 ℃ 30 s (× 35); (4) 58 ℃ 30 s (× 35) (IFNL3、Mx1、Mx2、OAS、GAPDH); (5) 72 ℃ 1 min (× 35); (6) 72 ℃ 10 min (× 1)。在扩增 IFNL1 和 IFNLR1 时, 第 4 步分别变为: 55 ℃ 30 s (× 35) 和 56 ℃ 30 s (× 35)。套式 PCR 法的第二步根据 Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0 plus dye) 试剂说明书配置体系, 程序: (1) 98 ℃ 10 s (× 35); (2) 58 ℃ 30 s (× 35) (IFNL1 和 IFNL3); (3) 72 ℃ 1 min (× 35); (4) 72 ℃ 10 min (× 1)。在扩增 IFNLR1 时, 第 2 步变为: 54 ℃ 30 s (× 35)。PCR 引物及参考序列如表 1 所示。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 利用 Amersham Imager 600 化学发光成像仪采集图像。使用 Image J 2.3.0 软件分析所得条带灰度值, 并以 DL2000 750 bp 处条带灰度值与该条带所对应的 GAPDH 条带灰度值为标准校正读数。

表 1 PCR 引物及参考序列
Table 1 PCR primers and reference sequences

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	参考序列 Reference sequence
IFNL1-O	F: ACATCATCGTGGATTGCTCATTT R: ACTCAGTCCTATGTCTCAGTCAG	XM_015123826. 2
IFNL1-I	F: ATTGCTCATTTTGCTGGCT R: TGCATAAATAAGGTGTGGGGTG	
IFNL3-O	F: CCAGGTGACAGCCTCGGAGTGTTT R: GGCTGGCAATAAATTAAGACAACGGGTT	XM_001086865. 4
IFNL3-I	F: AGCCTCGGAGTGTTCTTCTGCTGACAA R: ACTGGTGGGAGAGTCAAACACACAGGTC	
IFNLR1-O	F: TGAGGTGGCATTTCTGGAAGGA R: CCTGGAACCTGGTGCTCTTG	XM_015131243. 2
IFNLR1-I	F-1: CCAGAACTATCTACACCTTCA F-2: GCTGGAGGTTCCAGGACT R: CTTCTGTGTCCTCCTCCT	
Mx1	F: GGACTTTCCAGCCCTCCTC R: TTACCTGGGAACAGGGGC	XM_015132837. 2
Mx2	F: GTCTAAGGCCCACAAGTCTTG R: CAATTTTAGCACCAGCGGACACCT	
OAS	F: ATCGATAGTGCTGTTGACATCATC R: AGATCAAGGAGCCCTGCATAAACC	XM_001111022. 4
GAPDH	F: CCACCCATGGCAAATTCATGGCA R: TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCACC	

1.2.3 共聚焦显微术

(1) 冰冻切片: 提前预冷切片机; 将使用 OCT

包埋好的组织块固定到冰冻切片机上进行切片, 切片厚度 15 μm; 将切片粘贴在载玻片上, 室温放

干后保存于-80℃冰箱备用。

(2)免疫荧光染色:将组织切片置于含 0.3% Triton X-100 和鱼皮胶的 1×PBS 中 10 min 洗去包埋剂 OCT;1×PBS 漂洗 5 min×2 次;10%正常山羊血清封闭 30 min;滴加合适浓度的一抗覆盖组织后 4℃孵育过夜;第 2 天将切片从冰箱中取出后复温 20 min,1×PBS 漂洗 5 min×3 次;滴加合适浓度的二抗覆盖组织后室温孵育 60 min,1×PBS 漂洗 5 min×3 次;滴加 DAPI 染色液覆盖组织后室温静置 5 min,1×PBS 漂洗 5 min×3 次;滴加抗荧光淬灭剂封片。观察之前保存于 4℃冰箱中。

(3)激光扫描共聚焦显微镜观察:将已进行免疫荧光染色的组织切片置于共聚焦显微镜下,比较观察对照片(未加一抗)和特异抗体染色片,确定免疫染色阳性组织和细胞。利用激光扫描共聚焦显微镜观察和采集图像。设置顺序扫描模式依次收集 405、488 和 568 nm 波长激光(分别为细胞核、自发荧光、IFNLR1)激发产生的荧光图像,图像大小为 1024×1024 像素,图像编辑使用 Photoshop 19.1.8 软件,图像荧光强度值分析使用 Image J 2.3.0 软件。

1.3 统计学分析

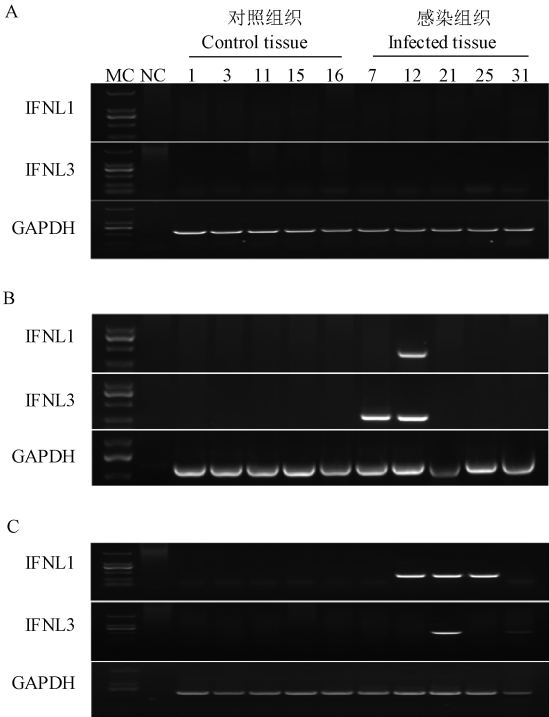
使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据统计分析。计量数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间差异的比较使用 *t* 检验,3 组间差异的比较使用单因素方差分析(ANOVA),具体方法根据数据的分布及方差齐性进行选择,方法名称详见每部分结果。计数数据两组间差异的比较使用 Fisher 精确检验。*P* < 0.05 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 IFNL1 和 IFNL3 在恒河猴生殖道中的表达

对恒河猴生殖道 IFNL1 和 IFNL3 mRNA 的 PCR 检测发现:正常恒河猴子宫颈、子宫体及阴道组织的 PCR 检测中均未见 IFNL1 和 IFNL3 的 mRNA 扩增条带(图 1)。SHIV/SIV 感染个体子宫体组织中的 PCR 检测也未见明确的 IFNL1 和 IFNL3 mRNA 扩增条带。但在 2 只感染动物子宫颈的 PCR 检测中观察到明确 IFNL1 mRNA 扩增条带,其中 1 只也检测到 IFNL3 mRNA;在感染动物阴道组织的 PCR 检测中,有 2 只可见 IFNL1

mRNA 扩增条带,另有 1 只可见 IFNL3 mRNA 扩增条带,还有 1 只观察到 IFNL1 mRNA 和 IFNL3 mRNA 扩增条带。感染动物阴道组织 IFNL mRNA 检测阳性率显著高于正常动物(Fisher 精确检验,*P* = 0.0325)。



注:A:子宫体;B:子宫颈;C:阴道;MW:分子量标准品;NC:阴性对照;图中数字为泳道编号,对应组织样本编号。

图 1 IFNL1 和 IFNL3 mRNA 在恒河猴子宫和阴道组织中的表达

Note. A. Uterus body. B. Uterus cervix. C. Vagina. MW. Molecular weight marker. NC. Negative control. Numbers is the numbering of lanes of the electrophoresis image, corresponding to the sample numbers.

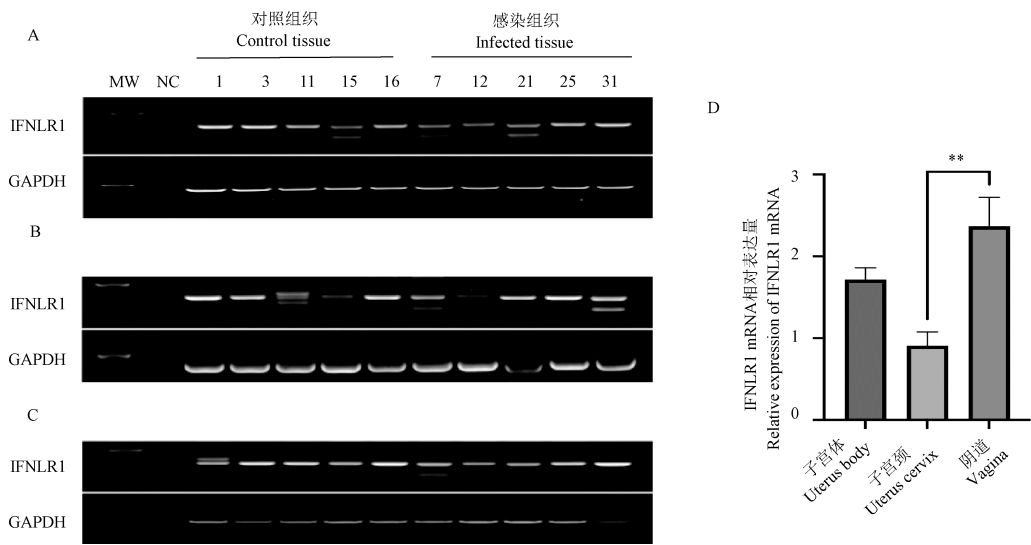
Figure 1 Expression of IFNL1 and IFNL3 mRNA in the uterus and vagina of rhesus macaques

2.2 IFNLR1 在恒河猴生殖道中的表达

对恒河猴生殖道 IFNLR1 mRNA 的 RT-PCR 检测发现:正常恒河猴的子宫体、子宫颈和阴道组织中均观察到 IFNLR1 mRNA 扩增条带;不过子宫颈中 IFNLR1 的 mRNA 表达水平低于子宫体和阴道,阴道组织中 IFNLR1 的 mRNA 表达水平最高,与子宫颈中 IFNLR1 mRNA 水平具有显著性差异(图 2A ~ 2D,Kruskal-Wallis ANOVA,*H* = 8.54,*P* = 0.0064)。使用免疫荧光染色和共聚焦显微镜观察发现子宫和阴道组织中均有明显的阳性染色,免疫荧光强度均显著高于背景荧光

(图 3A ~ 3D, Mann-Whitney test, $P < 0.01$)。在子宫体内, IFNLR1 免疫反应阳性主要分布在子宫内膜的单层柱状上皮和固有层的腺上皮; 在子宫颈中, IFNLR1 免疫反应阳性主要分布在子宫颈皱襞被覆上皮和隐窝上皮; 在阴道中, IFNLR1 免疫反应阳性主要分布在阴道黏膜的上皮层。子宫体上皮细胞的免疫荧光强度最高, 与子宫颈中 IFNLR1 的免疫荧光强度相比, 具有显著性差异(图 3E, Kruskal-Wallis ANOVA, $H = 12.50, P < 0.01$)。

对 SHIV/SIV 感染过的恒河猴生殖道组织中 IFNLR1 的 mRNA 水平分析发现感染动物 IFNLR1 的 mRNA 水平与正常个体之间无明显差异(感染个体子宫体、子宫颈和阴道组织 IFNLR1 的 mRNA 平均水平分别是正常组的 1.07、1.08 和 1.01 倍)。但 IFNLR1 的第 6 个外显子缺失的剪接变异体在感染后明显增加, 分别是正常组的 1.84、3.60 和 9.25 倍, 但统计检验未达到显著水平(Mann-Whitney test, $P > 0.9999, P = 0.2985, P = 0.8413$)。



注:A:子宫体;B:子宫颈;C:阴道;D:3个组织中 IFNLR1 mRNA 水平的比较;MW:分子量标准品;NC:阴性对照;图中数字为泳道编号,对应组织样本编号;与子宫颈组织相比, ** $P < 0.01$ 。(下图同)

图 2 IFNLR1 mRNA 在恒河猴子宫和阴道组织中的表达

Note. A. Uterus body. B. Uterus cervix. C. Vagina. D. Comparison of IFNLR1 mRNA expression level in the 3 tissues. MW. Molecular weight marker. NC. Negative control. Numbers is the numbering of lanes of the electrophoresis image, corresponding to the sample numbers. Compared with the uterus cervix tissues, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 2 Expression of IFNLR1 mRNA in the uterus and vagina of rhesus macaques

2.3 ISGs 在恒河猴生殖道中的表达

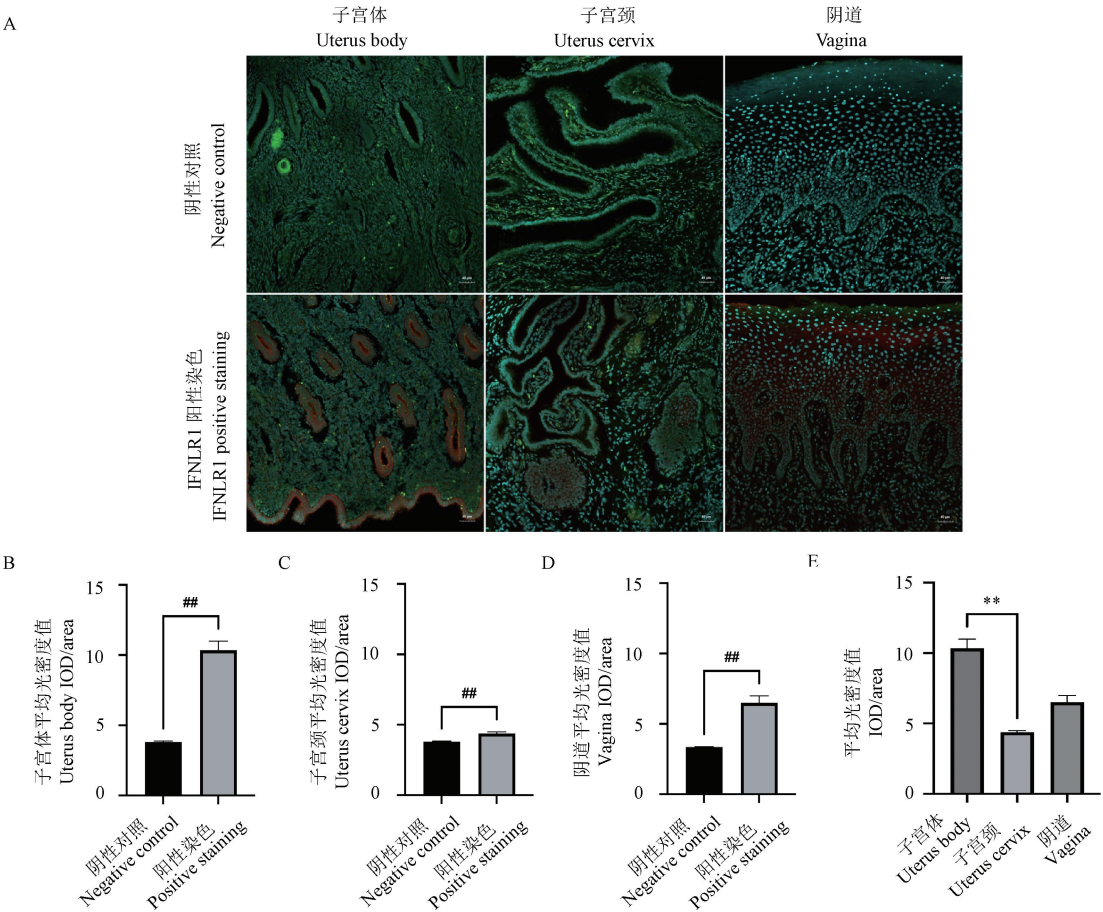
对恒河猴生殖道组织中干扰素诱导基因 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 的 mRNA 水平的检测发现:正常恒河猴生殖道可检测到低水平的 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* mRNA,但个体和组织差异较大,一些个体中未见明确扩增条带(图 4)。在 SHIV/SIV 感染个体生殖道组织中 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 的 mRNA 水平均明显升高。在感染个体子宫体中 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 的 mRNA 平均水平分别是正常个体的 3.7、2.2 和 3.2 倍,其中 *OAS* mRNA 水平差异具有显著性($P = 0.0407$)。

在感染个体子宫颈中 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 的

mRNA 平均水平分别是正常个体的 3.1、1.3 和 5.2 倍,其中 *Mx1* mRNA 水平差异具有显著性($P = 0.0360$)。在感染个体阴道中 *Mx1*、*Mx2* 和 *OAS* 的 mRNA 水平分别是正常个体的 7.1、1.9 和 1.42 倍,其中 *Mx1* mRNA 水平的差异具有显著性($P = 0.0131$)。

3 讨论

IFNL 在生殖系统免疫保护中具有十分重要的作用^[21-23]。本研究在正常恒河猴生殖道(阴道和子宫)组织中未获得明确的 IFNL mRNA PCR 扩增条带,表明正常状态下恒河猴生殖道中不表



注:A:子宫体、子宫颈和阴道组织中 IFNLR1 阳性染色与阴性对照;蓝绿色:细胞核;绿色:背景荧光;红色:IFNLR1 阳性染色;
B ~ D:子宫体、子宫颈和阴道上皮组织免疫荧光与阴性对照背景荧光强度的比较;E:子宫体、子宫颈和阴道上皮组织中免疫荧光强度的比较;与阴性对照相比,## $P < 0.01$ 。

图 3 IFNLR1 免疫荧光染色阳性细胞在恒河猴子宫和阴道组织中的分布

Note. A. IFNLR1 positive staining and negative control in the uterus body, uterus cervix and vagina. Cyan. Nuclei. Green. Background fluorescence. Red. IFNLR1 positive staining. B ~ D. Comparison of the intensity of IFNLR1 immunoreactivity and background fluorescence in the epithelia of uterus body, uterus cervix and vagina. E. Relative intensity of IFNLR1 immunoreactivity in the epithelia of uterus body, uterus cervix and vagina. Compared with the negative control, ## $P < 0.01$.

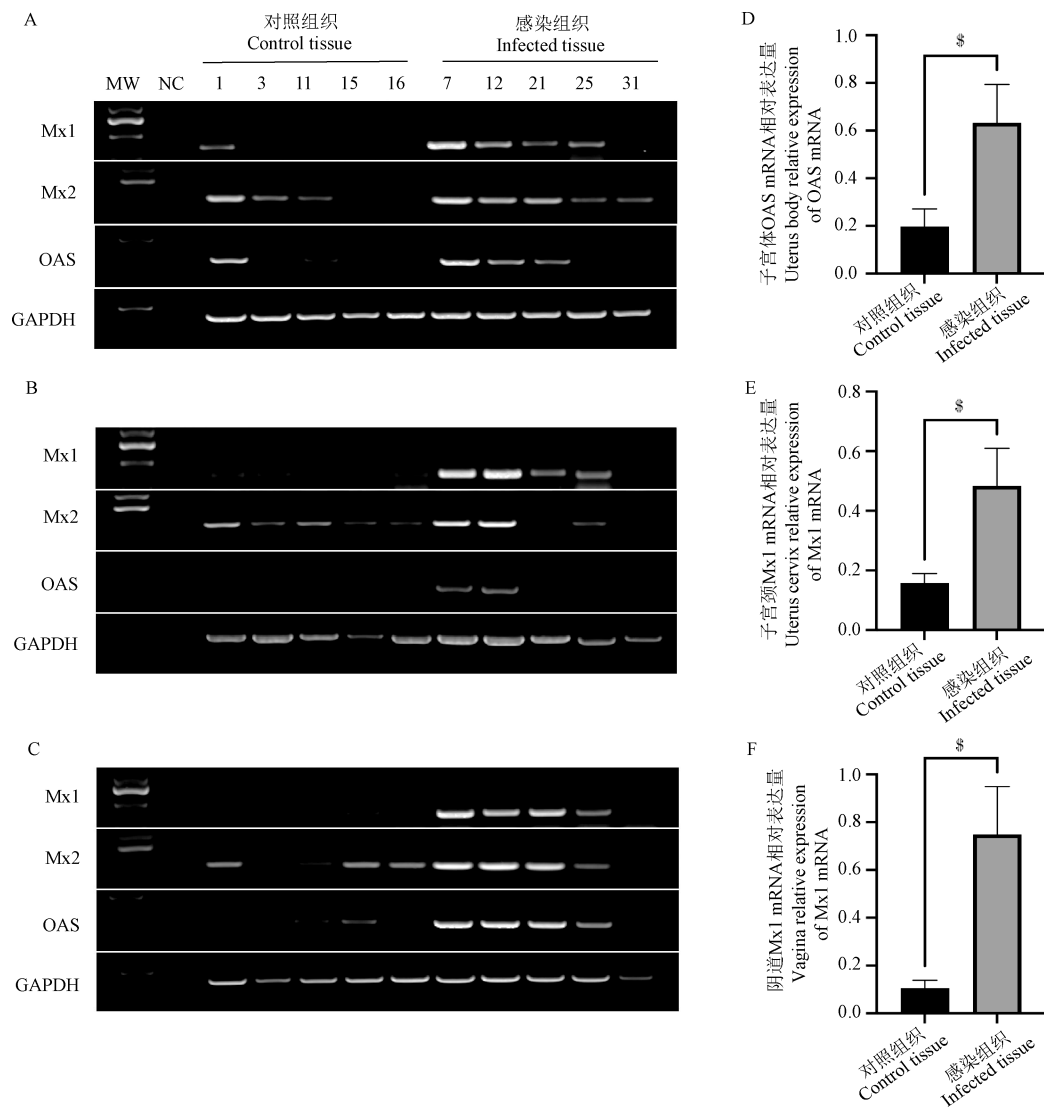
Figure 3 Distribution of IFNLR1 immunoreactive cells in the uterus and vagina of rhesus macaques

达或仅表达很低水平的 IFNL,这很可能与正常动物这些组织中无病毒感染有关。虽然胎盘组织即使在没有任何感染的情况下也会表达较高水平的 IFNL^[11],但正常子宫和阴道组织中并没有组成性地表达 IFNL,与胎盘中的情况不同。这说明胎盘与生殖道其他部位中 IFNL 表达的调控机制不同。但是在正常情况下子宫和阴道组织中组成性地表达 IFNLR1,并主要表达于上皮组织中,与人体中 IFNLR1 主要分布于上皮组织中的这一特征相一致^[6]。

病毒、细菌和真菌等微生物感染是 IFNL 表达的主要诱导因素^[4]。本研究发现在部分免疫

缺陷病毒 (SHIV/SIV) 感染个体的生殖道中有 IFNL1 和 IFNL3 的 mRNA 表达,而所检测过的正常个体生殖道组织中均未表达或仅表达极低水平 IFNL1 和 IFNL3 的 mRNA。与 IFNL1 和 IFNL3 相一致,感染个体中 Mx1、Mx2 和 OAS 的 mRNA 水平显著高于正常个体。表明免疫缺陷病毒感染很可能导致部分个体生殖道出现病毒、细菌或真菌感染。这与人免疫缺陷病毒感染机会性感染增加这一病理特征相一致^[24]。另外,阴道组织中 IFNL1 和 IFNL3 检测阳性率比子宫组织中高,可能与前者接触微生物的机会更多有关。

已有研究表明 Mx2 对 HIV-1 感染具有抑制



注:A:子宫体;B:子宫颈;C:阴道;MW:分子量标准品;NC:阴性对照;图中数字为泳道编号,对应组织样本编号;D ~ F:子宫体、子宫颈和阴道组织中干扰素刺激基因的 mRNA 水平比较;与对照组织相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 干扰素刺激基因 mRNA 在恒河猴子宫和阴道组织中的表达

Note. A. Uterus body. B. Uterus cervix. C. Vagina. MW. Molecular weight marker. NC. Negative control. Numbers is the numbering of lanes of the electrophoresis image, corresponding to the sample numbers. D ~ F. Comparison of mRNA expression level of ISGs in uterus body, uterus cervix and vagina tissues. Compared with the control tissue, * $P < 0.05$.

Figure 4 Expression of ISGs mRNA in the uterus and vagina of rhesus macaques

作用^[25]。本研究发现正常恒河猴生殖道黏膜表达 Mx2 且在病毒感染个体中表达水平升高。表明 Mx2 可能在生殖道抗病毒感染中发挥作用。本课题组在疫苗研究中发现未接种疫苗的对照组动物也需要在 SHIV 攻毒多次之后才会被感染^[19],表明正常恒河猴生殖道中确实存在对 SHIV 感染的固有免疫保护作用。Mx2 可能是恒河猴生殖道对 SHIV 或 SIV 感染的天然抵抗力中众多效应分子之一。

由于受样本的限制,本研究具有一定的局限性。因样本数量较小,统计结果可能存在一定的偏差,会低估差异的显著性水平。本文对免疫缺陷病毒感染样本的研究证明恒河猴生殖道可以表达 IFNL1 和 IFNL3,且观察到干扰素刺激基因表达水平升高,与预期相符^[18,26]。但仍然缺少足够的数据阐述 IFNL 在恒河猴生殖道免疫缺陷病毒感染中的作用或与病理变化的关系,有待进一步开展系统和深入的研究。

综上所述,本文对恒河猴生殖道组织中 IFNL1、IFNL3 和 IFNLR1 的表达进行了初步研究。发现正常恒河猴生殖道组织中可能不表达 IFNL1 和 IFNL3,但组成性表达 IFNLR1 且主要表达于黏膜上皮中;免疫缺陷病毒感染可导致恒河猴生殖道 IFNL1 和 IFNL3 表达及 ISGs 水平升高,可能与 SHIV/SIV 和机会性感染有关。本研究首次阐述了恒河猴生殖道Ⅲ型干扰素的表达与分布,为将恒河猴用于Ⅲ型干扰素相关生殖道感染性疾病研究提供了基础。

参 考 文 献(References)

- [1] MARTINS M A, GONZALEZ-NIETO L, RICCIARDI M J, et al. Rectal acquisition of simian immunodeficiency virus (SIV) SIVmac239 infection despite vaccine-induced immune responses against the entire SIV proteome [J]. J Virol, 2020, 94(24): e00979-01020.
- [2] NICHOLS W A, BIRKE L, DUFOUR J, et al. Characterization of the genital microenvironment of female rhesus macaques prior to and after SIV infection [J]. Am J Reprod Immunol, 2015, 74(6): 508-522.
- [3] BOMSEL M, TUDOR D, DRILLET A S, et al. Immunization with HIV-1 gp41 subunit virosomes induces mucosal antibodies protecting nonhuman primates against vaginal SHIV challenges [J]. Immunity, 2011, 34(2): 269-280.
- [4] KOTENKO S V, RIVERA A, PARKER D, et al. Type Ⅲ IFNs: beyond antiviral protection [J]. Semin Immunol, 2019, 43: 101303.
- [5] SOMMEREYNS C, PAUL S, STAEHELI P, et al. IFN-lambda is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells *in vivo* [J]. PLoS Pathog, 2008, 4(3): e1000017.
- [6] KOTENKO S V, DURBIN J E. Contribution of type Ⅲ interferons to antiviral immunity: location, location, location [J]. J Biol Chem, 2017, 292(18): 7295-7303.
- [7] ODENDALL C, DIXIT E, STAVRU F, et al. Diverse intracellular pathogens activate type Ⅲ interferon expression from peroxisomes [J]. Nat Immunol, 2014, 15(8): 717-726.
- [8] ODENDALL C, VOAK A A, KAGAN J C. Type Ⅲ IFNs are commonly induced by bacteria-sensing TLRs and reinforce epithelial barriers during infection [J]. J Immunol, 2017, 199(9): 3270-3279.
- [9] VITALI D, WESSELS J M, KAUSHIC C. Role of sex hormones and the vaginal microbiome in susceptibility and mucosal immunity to HIV-1 in the female genital tract [J]. AIDS Res Ther, 2017, 14(1): 39.
- [10] CORRY J, ARORA N, GOOD C A, et al. Organotypic models of type Ⅲ interferon-mediated protection from Zika virus infections at the maternal-fetal interface [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(35): 9433-9438.
- [11] WELLS A I, COYNE C B. Type Ⅲ interferons in antiviral defenses at barrier surfaces [J]. Trends Immunol, 2018, 39(10): 848-858.
- [12] WEISBLUM Y, OIKNINE-DJIAN E, VORONTSOV O M, et al. Zika virus infects early- and midgestation human maternal decidual tissues, inducing distinct innate tissue responses in the maternal-fetal interface [J]. J Virol, 2017, 91(4): e01905-e02016.
- [13] JAGGER B W, MINER J J, CAO B, et al. Gestational stage and IFN-λ signaling regulate ZIKV infection *in utero* [J]. Cell Host Microbe, 2017, 22(3): 366-376.
- [14] CUI Y F, YU L, WANG F J, et al. Molecular cloning, expression and biological activity of rhesus macaque interleukin-17A and interleukin-17F [J]. Mol Immunol, 2019, 114: 196-206.
- [15] ZHANG W J, WANG Y, YU K, et al. Associated changes in the transcription levels of IL-17A and tight junction-associated genes in the duodenal mucosa of rhesus macaques repeatedly exposed to simian/human immunodeficiency virus [J]. Exp Mol Pathol, 2014, 97(2): 225-233.
- [16] YU L, WANG F J, CUI Y F, et al. Molecular characteristics of rhesus macaque interleukin-22: cloning, *in vitro* expression and biological activities [J]. Immunology, 2018, 154(4): 651-662.
- [17] WANG Y, YAO W R, DUAN J Z, et al. Mucosal addressin cell adhesion molecule-1 of rhesus macaques: molecular cloning, expression, and alteration after viral infection [J]. Dig Dis Sci, 2014, 59(10): 2433-2443.
- [18] LIU R J, YANG G B. Molecular characteristics of rhesus macaque interferon-lambda receptor 1 (mmuifnlr1): sequence identity, distribution and alteration after simian-human immunodeficiency virus infection in the skin and buccal mucosa [J]. Dev Comp Immunol, 2024, 160: 105236.
- [19] YANG G B, WANG Y, BABAAHMADY K, et al. Immunization with recombinant macaque major histocompatibility complex class I and II and human immunodeficiency virus gp140 inhibits simian-human immunodeficiency virus infection in macaques [J]. J Gen Virol, 2012, 93(7): 1506-1518.
- [20] LI D, WANG F J, YU L, et al. Expression of pIgR in the tracheal mucosa of SHIV/SIV-infected rhesus macaques [J]. Zool Res, 2017, 38(1): 44-48.
- [21] IVERSEN M B, ANK N, MELCHJORSEN J, et al. Expression of type Ⅲ interferon (IFN) in the vaginal

mucosa is mediated primarily by dendritic cells and displays stronger dependence on NF-kappaB than type I IFNs [J]. J Virol, 2010, 84(9): 4579-4586.

[22] ANK N, WEST H, BARTHOLDY C, et al. Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections *in vivo* [J]. J Virol, 2006, 80(9): 4501-4509.

[23] CAINE E A, SCHEAFFER S M, ARORA N, et al. Interferon lambda protects the female reproductive tract against Zika virus infection [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 280.

[24] VICTORIANO A F B, IMAI K, OKAMOTO T. Interaction between endogenous bacterial flora and latent HIV infection [J]. Clin Vaccine Immunol, 2013, 20(6): 773-779.

[25] HALLER O, STAEHELI P, SCHWEMMLE M, et al. Mx GTPases: dynamin-like antiviral machines of innate immunity [J]. Trends Microbiol, 2015, 23(3): 154-163.

[26] SANFILIPPO C, PINZONE M R, CAMBRIA D, et al. OAS gene family expression is associated with HIV-related neurocognitive disorders [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(3): 1905-1914.

[收稿日期] 2024-12-13

《中国实验动物学报》2025 年征订启事

《中国实验动物学报》由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

开设栏目:研究报告和研究进展。

读者对象:生物学、医学、药学、环保、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员及相关的生产者、院校师生等。

刊期及订价:月刊,大 16 开本,160 页。月末出版。每期 50 元,全年 12 期,合 600 元。邮发代号:2-748。

汇款方式:银行转账:中国农业银行股份有限公司北京潘家园支行

账号:11220201040003764 单位抬头全称:中国实验动物学会

请注明订刊数量,并写明刊物寄往地址及收件人。收到汇款后,我们会及时将发票寄给您。