

# A 型塞内卡病毒 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠感染模型建立及感染特性评价

游灵巧<sup>1#</sup>, 张卿<sup>1#</sup>, 高晟斌<sup>2</sup>, 付利芝<sup>3,4,5</sup>, 贾梅玉<sup>1\*</sup>, 王玉娥<sup>1,3\*</sup>

1 西南大学 动物医学院, 重庆

2 中国动物卫生与流行病学中心, 山东 青岛

3 国家生猪技术创新中心, 重庆

4 重庆市畜牧科学院, 重庆

5 农业农村部动物疫病荣昌野外科学观测研究站, 重庆

游灵巧, 张卿, 高晟斌, 付利芝, 贾梅玉, 王玉娥. A 型塞内卡病毒 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠感染模型建立及感染特性评价[J]. 微生物学报, 2026, 66(5): 2430-2443.

YOU Lingqiao, ZHANG Qing, GAO Shengbin, FU Lizhi, JIA Meiyu, WANG Yu'e. Establishment of a Senecavirus A infection model in C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup> mice and evaluation of its infection characteristics[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(5): 2430-2443.

**摘要:** 【目的】构建能有效模拟猪 A 型塞内卡病毒(Senecavirus A, SVA)关键临床特征的小鼠模型, 为阐明其致病机制及开展防控产品评价提供关键实验工具。【方法】通过腹腔、皮下、肌肉注射 3 种途径分别接种 5 周龄 SPF 级 C57BL/6J 野生型(WT)小鼠和 I 型干扰素受体缺失(C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>)小鼠, 于感染后第 1、3、5 天采集血液及组织样本, 进行宏观病理、组织病理、病毒载量及炎症因子 mRNA 动态检测。【结果】与未接毒对照组相比, 2 种小鼠均出现腹股沟淋巴结肿大、肝脏土黄色变及脾肿大等宏观病变和显微病变(淋巴结皮质崩解、肝细胞坏死、脾白髓萎缩、肾小管坏死), 但 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠病变更为严重; 病毒 RNA 在 2 种小鼠组织中广泛分布, 但 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>组显著高于 WT 组。此外, WT 小鼠未出现病毒血症, C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠在感染后 1 dpi 全血中即可检出病毒, 3 dpi 达到峰值后快速下降。炎症因子检测显示, C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠 IL-1 $\beta$  和 IL-6 炎症因子 mRNA 水平和蛋白水平均显著高于 WT 小鼠。【结论】C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠首次模拟了猪 SVA 短暂病毒血症特征, 可全面复现病毒多器官分布、高病毒载量及自限性恢复等特征, 为深入研究其致病机制及评价疫苗与抗病毒药物提供了更为有效的动物模型。

**关键词:** A 型塞内卡病毒; 动物模型; C57BL/6J 野生型小鼠; C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠; 感染特性

资助项目: 国家自然科学基金(32402877); 重庆市自然科学基金(CSTB2024NSCQ-MSX2567)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32402877) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2024NSCQ-MSX2567).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding authors. E-mail: JIA Meiyu: jamey123123@163.com; WANG Yu'e: vetyuewang@163.com

Received: 2025-12-02; Accepted: 2026-01-05; Published online: 2026-01-16

# Establishment of a Senecavirus A infection model in C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mice and evaluation of its infection characteristics

YOU Lingqiao<sup>1#</sup>, ZHANG Qing<sup>1#</sup>, GAO Shengbin<sup>2</sup>, FU Lizhi<sup>3,4,5</sup>, JIA Meiyu<sup>1\*</sup>, WANG Yu'e<sup>1,3\*</sup>

1 College of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing, China

2 China Animal Health and Epidemiology Center, Qingdao, Shandong, China

3 National Center of Technology Innovation for Pigs, Chongqing, China

4 Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing, China

5 Rongchang Field Scientific Observation and Research Station for Animal Diseases, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chongqing, China

**Abstract:** [Objective] To establish a mouse model that effectively simulates the key clinical features of porcine Senecavirus A (SVA) infection, providing a crucial experimental tool for elucidating its pathogenesis and evaluating prevention and control products. [Methods] Five-week-old SPF C57BL/6J wild-type (WT) mice and type I interferon receptor-deficient (C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup>) mice were inoculated *via* intraperitoneal, subcutaneous, and intramuscular routes. Blood and tissue samples were collected on days 1, 3, and 5 post-infection (dpi) for analysis of gross pathology, histopathology, viral load, and dynamic determination of inflammatory cytokines at the mRNA level. [Results] Compared with the mock-infected control group, both mouse strains developed gross lesions (e.g., swollen inguinal lymph nodes, yellowish livers, splenomegaly) and histopathological lesions (e.g., cortical disintegration of lymph nodes, hepatocellular necrosis, atrophy of splenic white pulp, and renal tubular necrosis). However, these lesions were more severe in C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mice. Viral RNA was widely distributed in tissues of both groups but was significantly higher in the C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> group. Notably, viremia was undetectable in WT mice, whereas in C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mice, the virus was detected in whole blood as early as 1 dpi, peaked at 3 dpi, and then declined rapidly. Inflammatory cytokine analysis revealed significantly higher mRNA levels and protein levels of IL-1 $\beta$  and IL-6 in C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mice than in WT mice. [Conclusion] The C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mouse model successfully simulates, for the first time, the transient viremia characteristic of porcine SVA infection. It comprehensively replicates key features, including the multi-organ viral distribution, high viral load, and self-limiting recovery, providing a more effective animal model for delving into the pathogenic mechanism of SVA and evaluating vaccines and antiviral drugs.

**Keywords:** Senecavirus A; animal model; C57BL/6J wild-type mice; C57BL/6J<sup>IFNAR<sup>-/-</sup></sup> mice; infection characteristics

A型塞内卡病毒(Senecavirus A, SVA)属于小RNA病毒科塞内卡病毒属, 是一种无囊膜的单

股正链RNA病毒<sup>[1]</sup>。其基因组长度约7 300 bp, 呈典型的L-4-3-4结构, 即包含L前体蛋白、结

构蛋白(VP4、VP2、VP3 和 VP1)的 P1 区、非结构蛋白(2A、2B 和 2C)的 P2 区、非结构蛋白(3A、3B、3C 和 3D)的 P3 区, 编码的结构与非结构蛋白共同完成病毒的复制与组装。猪感染该病毒后会表现出类似口蹄疫的临床症状。自 2007 年加拿大首次报道以来<sup>[2]</sup>, SVA 疫情已蔓延至全球多个主要养猪国家, 如美国、巴西、中国、哥伦比亚、泰国等, 成为一种不容忽视的新发病毒性传染病<sup>[3]</sup>。2015 年 3 月, 我国广东省首次报道了 SVA 疫情, 之后疫情由南往北迅速蔓延开来, 目前我国已有多地的猪场感染 SVA, 湖南、广西、福建、河南、湖北、江西、新疆、黑龙江等省(自治区)相继发生疫情<sup>[4]</sup>。Li 等<sup>[5]</sup>统计 2021 年前的数据发现, 中国西南地区 SVA 个体阳性率达 11.70%, 群体阳性率高达 50%; Preis 等<sup>[6]</sup>对 2022 年美国近百个猪场的监测显示, SVA 血清阳性率约 17.3%, 提示 SVA 的流行形势依然严峻。

SVA 是猪特发性水疱病(porcine idiopathic vesicular disease, PIVD)和流行性短暂新生仔猪死亡(epidemic transient neonatal losses, ETNL)的主要病原, 感染者表现为嗜睡、跛行及口鼻部、蹄部出现水疱性病变<sup>[7-8]</sup>。尽管 SVA 的总体发病率较高, 但其致死率因猪群日龄不同而有所差异, 1-4 日龄新生仔猪感染后死亡率可高达 30%-70%<sup>[9]</sup>。该病毒具有广泛的组织嗜性, 可在扁桃腺、淋巴结、脾脏、肝脏、肾脏等多种组织中复制, 并诱导宿主产生短暂的病毒血症<sup>[10-11]</sup>; 其早期产生的中和抗体与病毒清除密切相关<sup>[12-13]</sup>。

然而, SVA 的流行病学和致病机制等诸多方面仍不清楚。猪虽被视为 SVA 的自然宿主, 但血清学及病毒分离证据表明, 该病毒可能存在跨物种传播风险。国外研究者在牛、鼠等动物血清中检出 SVA 抗体<sup>[2,14]</sup>; 国内研究者于 2021 年从广东省的水牛体内首次分离到 SVA, 进一步证实了这一风险<sup>[15]</sup>。此外, 研究表明自然感染的小鼠可携带具有感染性的病毒颗粒,

家蝇和库蠓等昆虫也被认为是潜在传播媒介, 提示 SVA 的传播链复杂, 对养猪业构成持续威胁<sup>[16-18]</sup>。

目前, 针对 SVA 的致病机制和传播规律仍有许多未明之处, 亟需建立可靠的动物模型以支撑相关研究。虽然猪是理想的自然感染模型, 但其成本高、周期长、操作不便等限制了大通量研究的开展。小鼠因具备遗传背景清晰、繁殖快、成本低廉等优势, 被广泛应用于病毒机制、疫苗免疫评价及药物筛选研究<sup>[19-20]</sup>。然而, 常规 C57BL/6J 野生型(wild-type, WT)小鼠模型感染 SVA 后不引起病毒血症, 无法模拟猪只急性期的关键病理过程。因此, 本研究系统比较了 C57BL/6J WT 与其 I 型干扰素受体基因敲除(C57BL/6J<sup>IFN $\alpha$ 1-/-</sup>)小鼠在不同攻毒途径下对 SVA 的感染反应, 通过分析病毒复制动态、组织病理损伤、免疫应答特征等指标, 构建可重现 SVA 病毒血症与多器官病变的小鼠模型, 以期为深入揭示 SVA 致病机制及开展防控产品评价提供关键实验工具。

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒和实验动物

SVA 毒株由本实验室分离并保存。实验动物选用 5 周龄雌性无特定病原体(specific pathogen free, SPF) C57BL/6J WT 小鼠, 购自重庆恩斯维尔实验动物销售有限公司; C57BL/6J<sup>IFN $\alpha$ 1-/-</sup>小鼠(I 型干扰素受体基因敲除)由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所翁长江与黄丽研究员惠赠。本研究所有动物实验均获得重庆市畜牧科学院实验动物伦理委员会批准, 编号为 XKY-202402B01。

### 1.2 主要试剂和仪器

TRIzol 试剂和 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司; PrimeScript RT Master Mix 试剂盒, TaKaRa 公司; 乙醚, 上海凌峰化学试剂有限公

司; 肝素钠, 上海源叶生物科技有限公司; 4% 中性福尔马林溶液, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 小鼠 IL-6、TNF- $\alpha$  及 IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒, 杭州华安生物技术有限公司。

冷冻研磨仪, 上海净信实业发展有限公司; 低温高速离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; 实时荧光定量 PCR 仪, 西安天隆科技有限公司; 酶标仪, 赛默飞世尔科技公司。

### 1.3 小鼠攻毒试验

将 48 只 C57BL/6J WT 小鼠随机分成 4 组 ( $n=12$ ), 包括 3 个感染组(腹腔注射、皮下注射、肌肉注射)和 1 个对照组。小鼠适应饲养 3 d 后, 感染组每只小鼠经相应途径接种 200  $\mu$ L SVA 病毒液(滴度为  $2 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/只, 原液浓度为  $10^7$  TCID<sub>50</sub>/0.1 mL); 对照组小鼠不做任何处理。攻毒当天记为 0 d, 每日观察并记录小鼠临床症状, 分别于感染后第 1、3、5 天(days post infection, dpi)采集各组小鼠抗凝全血和血清。C57BL/6J<sup>IFN $\gamma$ -/-</sup>小鼠的实验分组、病毒接种剂量与时间点均与 WT 小鼠保持一致。

### 1.4 病理剖检

在 1、3、5 dpi, 每组随机选取 4 只小鼠, 采用乙醚麻醉后实施安乐死, 立即进行系统剖检。重点观察并记录肝、脾、肺、肾、腹股沟淋巴结等组织器官的病变情况, 同时拍照存档。在无菌条件下采集上述组织, 每个样本均分为 2 份: 一份置于 -80  $^{\circ}$ C 冰箱保存, 用于病原检测; 另一份置于 4% 福尔马林溶液中固定, 用于后续组织病理学分析。

表1 本研究所用引物

Table 1 Primer used in this study

Gene names	Forward primers (5'→3')	Reverse primers (5'→3')
<i>SVA 3D</i>	GCGTCGCATCAAGATTACCG	AGGTCAATGCCAGAGCAGTC
<i>IL-6</i>	AGTTGCCTTCTTGGGACTGA	CAGAAATTGCCATTGCACAAC
<i>IL-1<math>\beta</math></i>	GCAACTGTTTCTTGAAGTCAACT	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	CGATGAGGTCAATCTGCCCA	CCAGGTCACTGTCCCAGCATC
<i>GAPDH</i>	AAATGGTGAAGGTCGGTGTGAAC	CAACAATCTCCACTTTGCCACTG

### 1.5 病原检测

将采集的病料组织和抗凝全血加入 TRIzol 试剂, 经冷冻研磨仪充分匀浆。4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min 后收集上清液, 进行总 RNA 抽提。使用 PrimeScript RT Master Mix 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA。以 cDNA 为模板, 使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 在实时荧光定量 PCR 仪上对 *SVA 3D* 基因及各类细胞因子 mRNA 进行扩增检测。以 *GAPDH* 为内参, 采用  $\Delta\Delta C_t$  法对炎症因子等靶基因进行相对定量分析; 采用绝对定量 PCR 技术检测病毒在动物体组织脏器中的载量。所用引物序列如表 1 所示。

### 1.6 苏木素-伊红(H.E.)染色

福尔马林溶液固定后的组织经常规包埋, 制作石蜡切片。切片经脱蜡、水化后, 进行苏木素-伊红染色, 具体步骤如下: 苏木精染色 5 min, 经水洗-分化-水洗-返蓝-水洗处理后, 再依次用 85%、95% 的乙醇梯度脱水 5 min, 伊红复染各 5 min, 最后用中性树胶封片, 在光学显微镜下观察并评估组织病理变化。

### 1.7 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

将标准品和采集的血清样本各 10  $\mu$ L, 加入 50  $\mu$ L 分析缓冲液, 再加入 50  $\mu$ L 检测抗体, 用封板膜覆盖后在微孔板振荡器上室温孵育 1 h。随后弃去液体, 每孔加 300  $\mu$ L 洗涤液, 静置后弃去并拍干, 重复 4 次。每孔加入 100  $\mu$ L 链霉亲和素-HRP, 用封板膜覆盖后在微孔板振荡器

上室温孵育 30 min。随后弃去液体，每孔加 300  $\mu\text{L}$  洗涤液，静置后弃去并拍干，重复 4 次。每孔加入 100  $\mu\text{L}$  TMB 底物溶液，室温避光孵育 15 min。每孔加入 100  $\mu\text{L}$  终止液，用酶标仪在 450 nm 波长下读取吸光值。根据绘制的标准曲线计算样品浓度。

### 1.8 统计学分析与作图

采用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行处理及统计学分析。数据以平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 表示。采用 *t* 检验进行组间差异性比较。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 C57BL/6J WT 小鼠病理剖检结果

剖检结果显示，SVA 感染组 C57BL/6J WT

小鼠呈现一致性的系统性病变：腹股沟淋巴结均明显肿胀，质地变硬(图 1A)；肝脏颜色变浅，呈土黄色(图 1B)；通过腹腔和皮下注射途径感染的小鼠脾脏表现出轻度至中度肿大(图 1C)。脑、肾、心脏等器官外观未见异常(图 1D-1F)。上述结果表明，SVA 感染可导致 C57BL/6J WT 小鼠产生明显的病理损伤。

### 2.2 C57BL/6J WT 小鼠组织病理学观察

由于剖检仅发现腹股沟淋巴结、肝脏和脾脏出现异常，因此对这 3 类脏器进行组织病理学检查。与对照组相比，感染组小鼠腹股沟淋巴结出现网状内皮细胞增生、炎性细胞浸润(图 2A-2D)；肝脏表现为肝细胞空泡变性、核碎裂或消失，并见散在的局灶性坏死(图 2E-2H)；

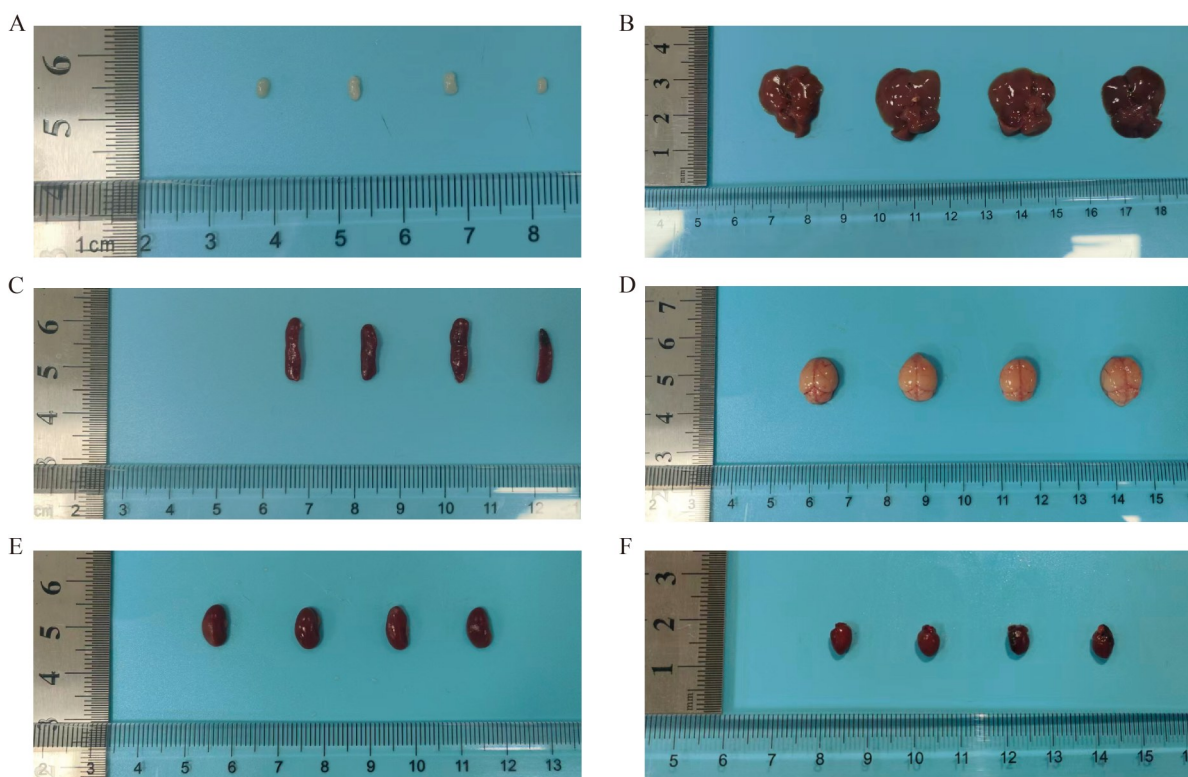


图1 C57BL/6J WT小鼠病理剖检结果

Figure 1 Pathological autopsy findings in C57BL/6J WT mice. A: Inguinal lymph node; B: Liver; C: Spleen; D: Brain; E: Kidney; F: Heart. From left to right: intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group.

脾脏则出现浆液渗出、淋巴细胞数量减少(图 2I–2L)。这些结果进一步证实 SVA 在 WT 小鼠体内感染可引起实质性损伤。

### 2.3 SVA 在 C57BL/6J WT 小鼠组织中的病毒载量

通过实时荧光定量 PCR 系统检测感染后 1、3、5 d 小鼠组织中的病毒 RNA。结果显示(图 3), 经不同途径感染的小鼠在肝脏、脾脏、肺、腹股沟淋巴结等组织中均能检测到病毒 RNA, 但全血始终为阴性, 提示未形成病毒血症。病毒含量呈明显的组织偏好性: 腹股沟淋巴结病毒载量最高, 约为  $1 \times 10^5$ – $3 \times 10^5$  copies/mg; 肝脏和脾脏次之, 载量分别为  $3 \times 10^4$ – $2 \times 10^5$  copies/mg

和  $1 \times 10^3$ – $1 \times 10^4$  copies/mg; 心脏、肺、肾、脑等脏器中病毒载量水平约为  $1 \times 10^2$  copies/mg。腹腔注射组在大脑、胸腺、心脏、肺、肾、空肠及肠系膜淋巴结中的病毒载量均高于皮下和肌肉内注射组(图 3A–3C), 表明腹腔注射途径更易造成全身性感染。此外, 病毒于 1 dpi 可在各个组织中检出, 随着时间延长, 病毒载量显著降低, 提示 WT 小鼠可通过天然免疫逐步控制 SVA 复制。

### 2.4 C57BL/6J<sup>IFN $\alpha$</sup> –/–小鼠出现病毒血症

已有研究表明, 猪感染 SVA 早期伴随短暂且高效的病毒血症, 这是临床关键特征之一<sup>[12]</sup>。由于 C57BL/6J WT 小鼠未出现病毒血症, 难以

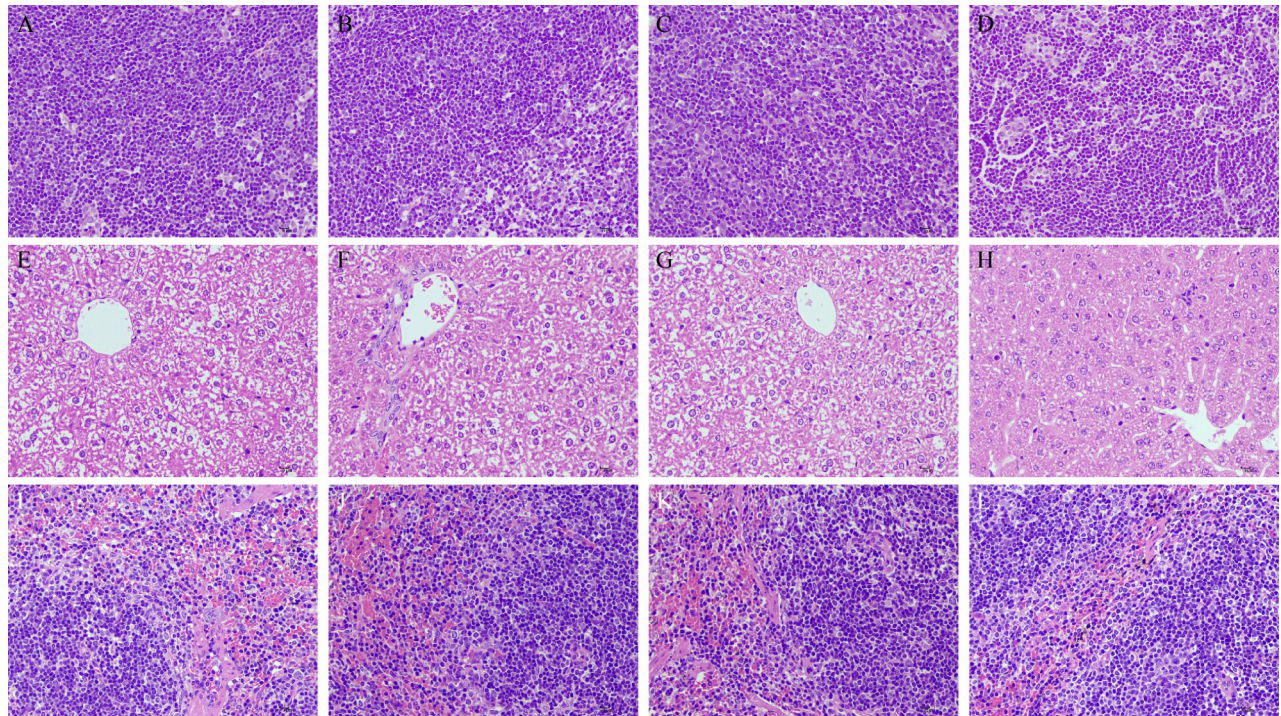


图2 SVA感染引起C57BL/6J WT小鼠出现实质性损伤(400×)

Figure 2 SVA infection-induced parenchymal injury in C57BL/6J WT mice (400×). A–D: Inguinal lymph nodes of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right); E–H: Liver of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right); I–L: Spleen of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right).

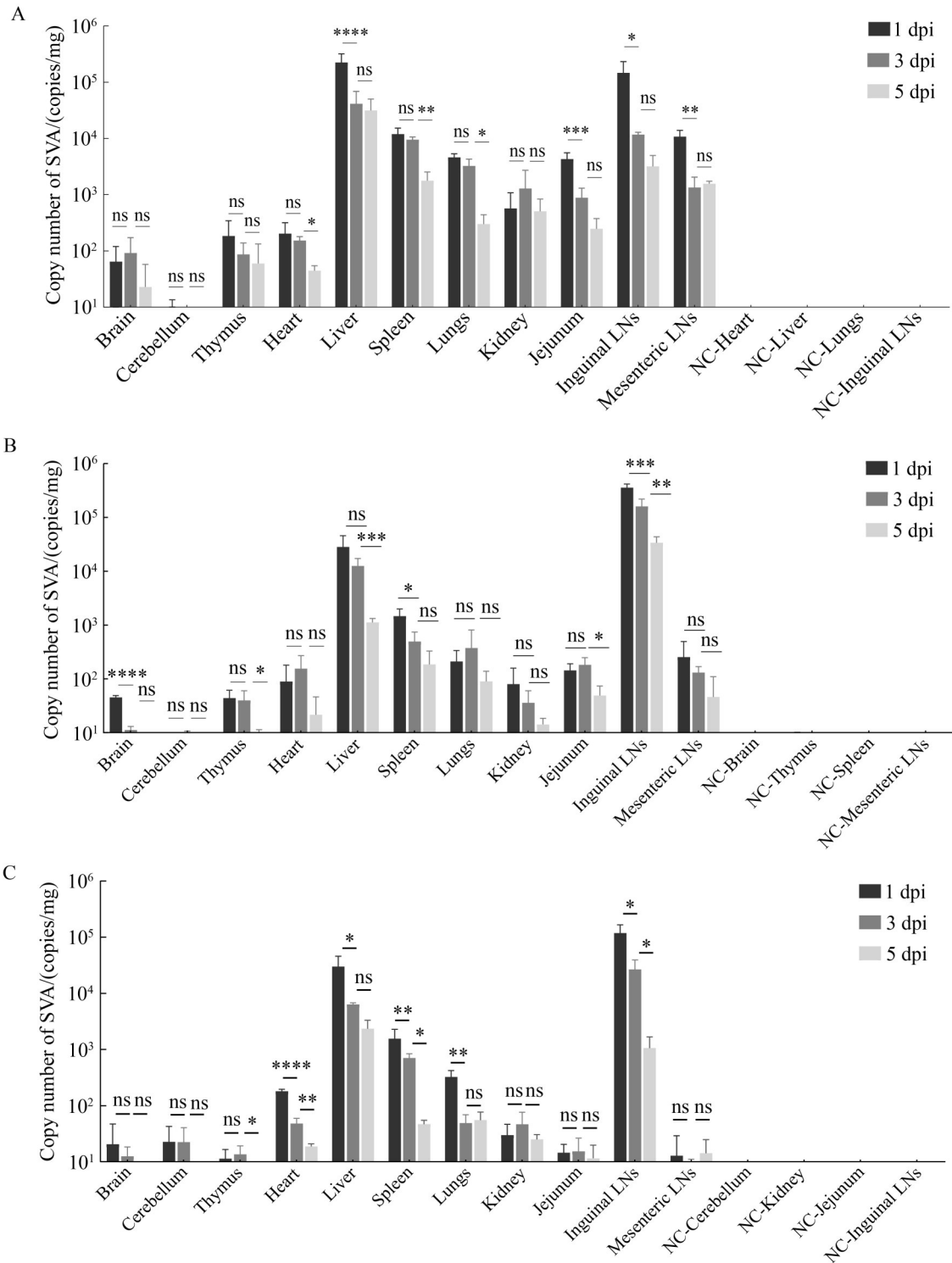


图3 SVA在C57BL/6J WT小鼠组织中的病毒载量

Figure 3 Viral load of SVA in tissues of C57BL/6J WT mice. A: Intraperitoneal injection group; B: Subcutaneous injection group; C: Intramuscular injection group. ns:  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

完整模拟 SVA 感染过程。因此, 本研究进一步在 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠中评估病毒血症的发生与消长规律。实时荧光定量 PCR 结果显示(图 4), 3 种攻毒途径均可在 1 dpi 的全血中检出 SVA RNA, 峰值可达  $1 \times 10^6$  copies/mL; 皮下和肌内注射组病毒载量水平在 3 dpi 时进一步升高, 随后快速下降, 至 5 dpi 降至  $4 \times 10^3$  copies/mL 左右。病毒血症的动态曲线与猪只早期报道一致, 提示 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠能够更精准地模拟 SVA 感染情况。

## 2.5 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠病理剖检结果

与对照组及 WT 感染组相比, C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠呈现更为显著的系统性病变(图 5)。腹股沟淋巴结体积明显增大、质地变硬(图 5A); 肝脏色泽普遍变浅, 呈土黄色改变(图 5B); 各攻毒组脾脏均可见中度至重度肿大, 边缘钝圆(图 5C); 脑、肾、心脏等脏器外观未见异常(图 5D-5F)。结果提示, I 型干扰素信号缺失可显著放大 SVA 引起的系统性病变。

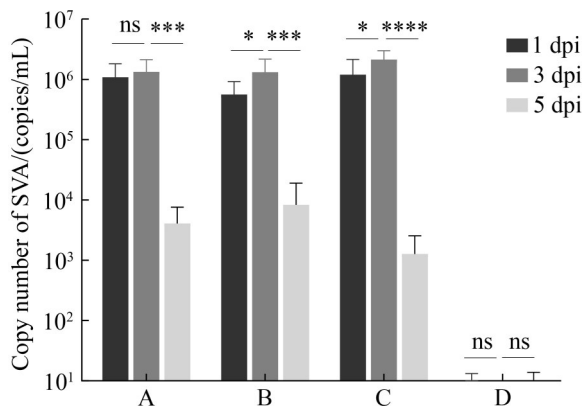


图4 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠出现病毒血症

Figure 4 Viremia in C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup> mice. A: Intraperitoneal injection group; B: Subcutaneous injection group; C: Intramuscular injection group; D: Negative control. ns:  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

## 2.6 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠组织病理学观察

由于 SVA 对 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠的宏观病变显著重于 WT 组, 本研究对腹股沟淋巴结、肝、脾和肾组织进行了组织病理学评估。H.E. 染色结果显示, 腹股沟淋巴结皮质区结构崩解, 淋巴细胞显著减少(图 6A-6D); 肝脏出现肝细胞空泡样变性及灶性坏死, 肝小叶之间界限模糊不清(图 6E-6H); 脾脏白髓萎缩, 淋巴细胞数量明显减少(图 6I-6L); 肾脏则表现为肾小管上皮细胞肿胀、核固缩, 管腔内可见细胞坏死及脱落(图 6M-6P)。上述多器官实质性损伤证实 I 型干扰素信号缺失显著加剧了 SVA 的嗜组织性与致病力。

## 2.7 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠各组织中具有更高的病毒载量

定量 PCR 显示, SVA 在 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠体内分布更为广泛且能够高效增殖(图 7)。除肝脏、脾脏、肺和腹股沟淋巴结外, 小脑、心脏、肾脏、空肠及肠系膜淋巴结中均能检出病毒 RNA。腹股沟淋巴结仍是病毒载量最高的组织, 腹腔与皮下注射组可达  $1 \times 10^7 - 2 \times 10^7$  copies/mg, 肌内注射组约为  $7 \times 10^5$  copies/mg; 肝脏次之, 病毒载量约为  $3 \times 10^5 - 1 \times 10^7$  copies/mg, 腹腔和皮下注射组显著高于肌内注射组; 其他脏器中病毒载量峰值均维持在  $3 \times 10^2 - 5 \times 10^5$  copies/mg。病毒 RNA 在 1 dpi 即可在各组织中检出; 至 3 dpi, 多数组织的病毒载量迅速升高至峰值, 较 1 dpi 上升 1-3 log<sub>10</sub>, 且显著高于同期 WT 小鼠 ( $P < 0.01$ ), 表明 SVA 在 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠体内活跃复制; 到 5 dpi 时病毒载量普遍下降 2-5 log<sub>10</sub>, 提示病毒复制已得到宿主有效控制。

## 2.8 C57BL/6J WT 和 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠炎症因子表达动态

由于 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠感染 SVA 后在临

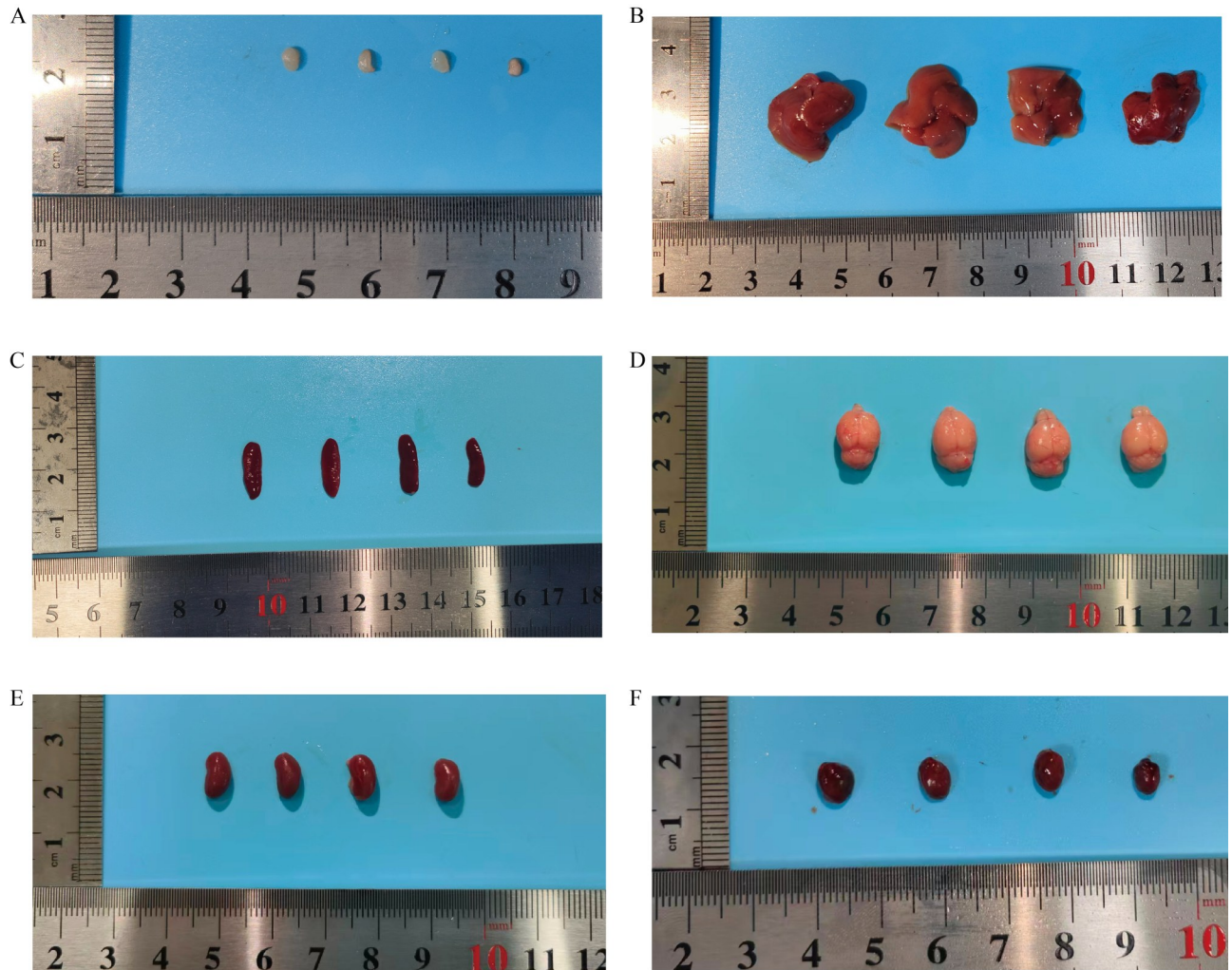


图5 C57BL/6J<sup>IFN<sup>-/-</sup></sup>小鼠病理剖检结果

Figure 5 Pathological autopsy findings in C57BL/6J<sup>IFN<sup>-/-</sup></sup> mice. A: Inguinal lymph node; B: Liver; C: Spleen; D: Brain; E: Kidney; F: Heart. From left to right: intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group.

床表现、组织损伤以及病毒载量等方面均较 WT 小鼠更为显著，本研究进一步探究了 2 组小鼠腹股沟淋巴结和血清中关键炎症因子的动态变化。如图 8 所示，与 WT 小鼠相比，C57BL/6J<sup>IFN<sup>-/-</sup></sup> 小鼠呈现更强且动态变化的炎症谱型：TNF- $\alpha$  与 IL-6 mRNA 于 1 dpi 显著升高，3 dpi 即明显回落；对应血清蛋白 TNF- $\alpha$  和 IL-6 也分别由 24 pg/mL 和 6 pg/mL 降至 16 pg/mL 和 3 pg/mL；IL-1 $\beta$  mRNA 则在 3 dpi 显著升高，但

蛋白水平无明显变化且仅约为 0.6 pg/mL，提示第二波炎症放大。相比之下，WT 小鼠 TNF- $\alpha$  变化趋势与 C57BL/6J<sup>IFN<sup>-/-</sup></sup> 小鼠相似(图 8A、8D)，IL-6 mRNA 水平仅在 3 dpi 上调，血清中 IL-6 含量无明显变化(图 8B、8E)，而 IL-1 $\beta$  在 WT 小鼠则无明显变化(图 8C、8F)。综上所述，SVA 在 C57BL/6J<sup>IFN<sup>-/-</sup></sup> 小鼠诱发的炎症反应更为强烈，与临床上猪自然感染 SVA 早期的症状更相符。

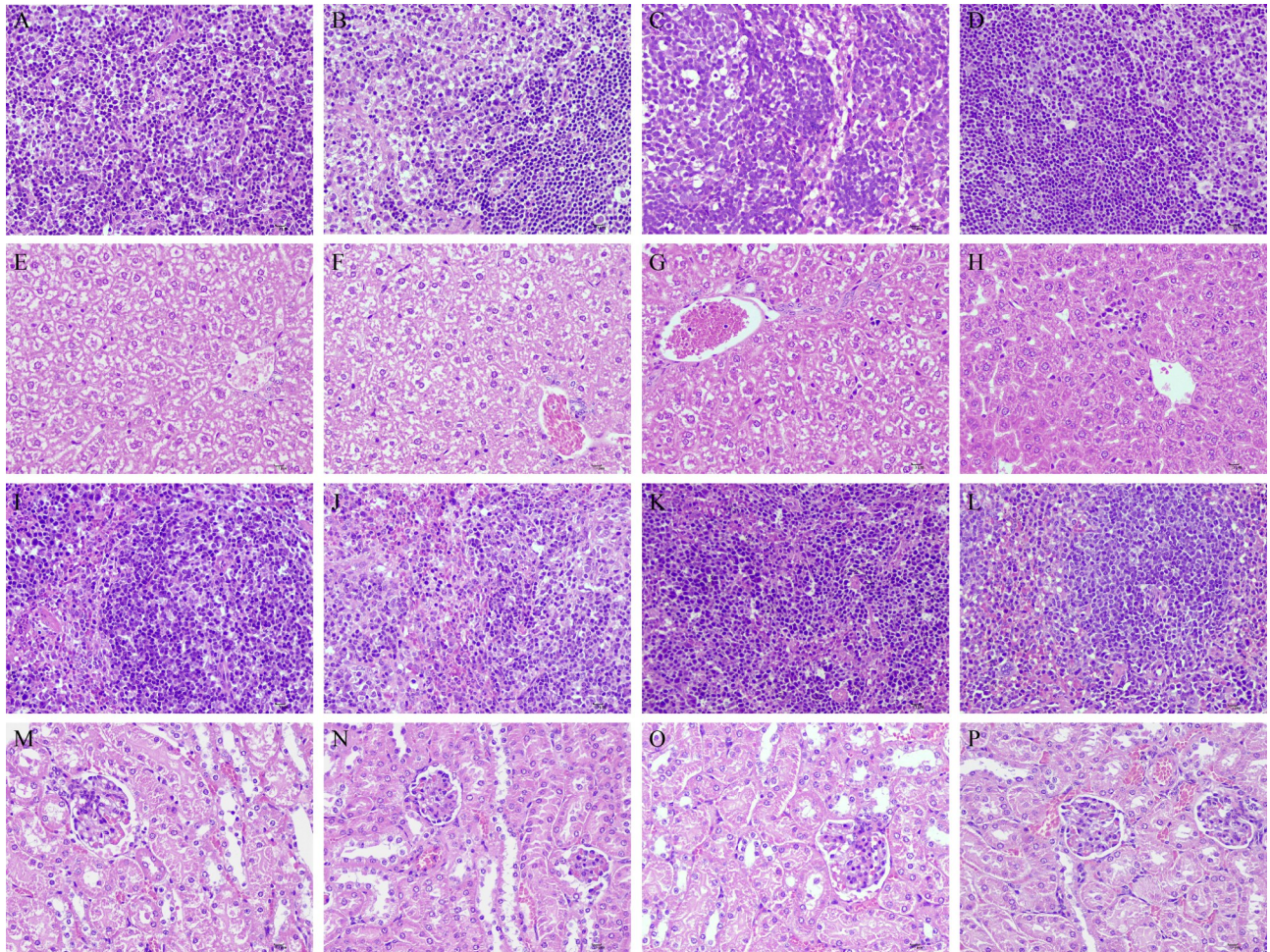


图6 SVA感染C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠出现更为严重的组织病理损伤(400×)

Figure 6 SVA infection causes more severe histopathological damage in C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup> mice (400×). A–D: Inguinal lymph nodes of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right); E–H: Liver of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right); I–L: Spleen of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right); M–P: Kidney of mice from the intraperitoneal injection group, subcutaneous injection group, intramuscular injection group, and negative control group (from left to right).

### 3 讨论与结论

建立能够准确模拟病原体关键致病特征的动物模型是解析 SVA 致病机制与评价防控产品的首要前提。猪作为 SVA 的自然宿主，其高成本、长周期以及伦理限制等因素使其难以满足

高通量研究的需求。现有小鼠模型虽可用于评估 SVA 疫苗的免疫原性初评<sup>[21-23]</sup>和药物筛选<sup>[24]</sup>，但因缺乏病毒血症而难以模拟急性期全身扩散的特征。本研究系统比较 WT 与 C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠在 3 种接种途径下的感染动力学，证实 SVA 在两系小鼠中呈广谱组织嗜性，

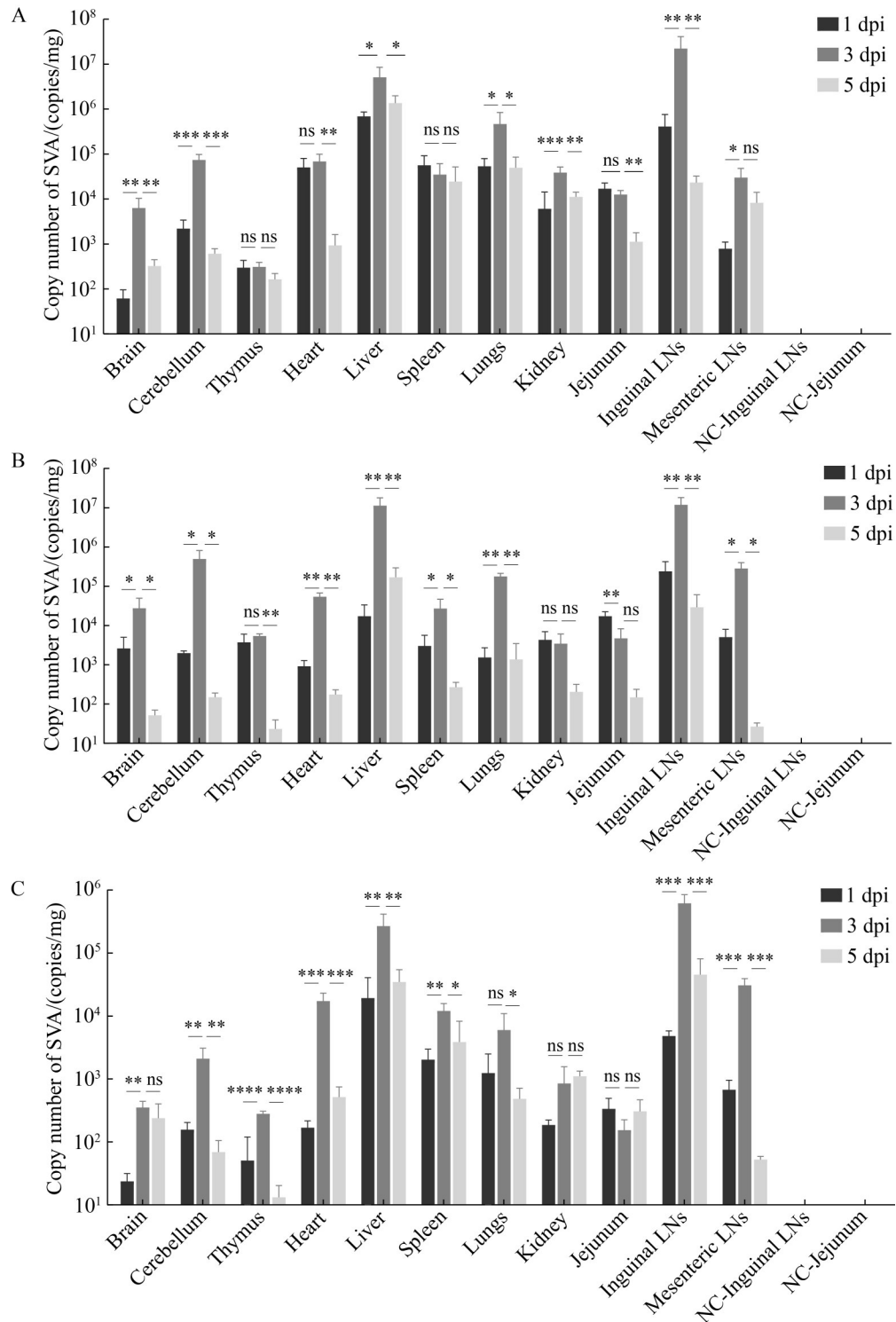


图7 SVA在C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup>小鼠组织中的病毒载量

Figure 7 Viral load of SVA in tissues of C57BL/6J<sup>IFNR</sup><sup>-/-</sup> mice. A: Intraperitoneal injection group; B: Subcutaneous injection group; C: Intramuscular injection group. ns:  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

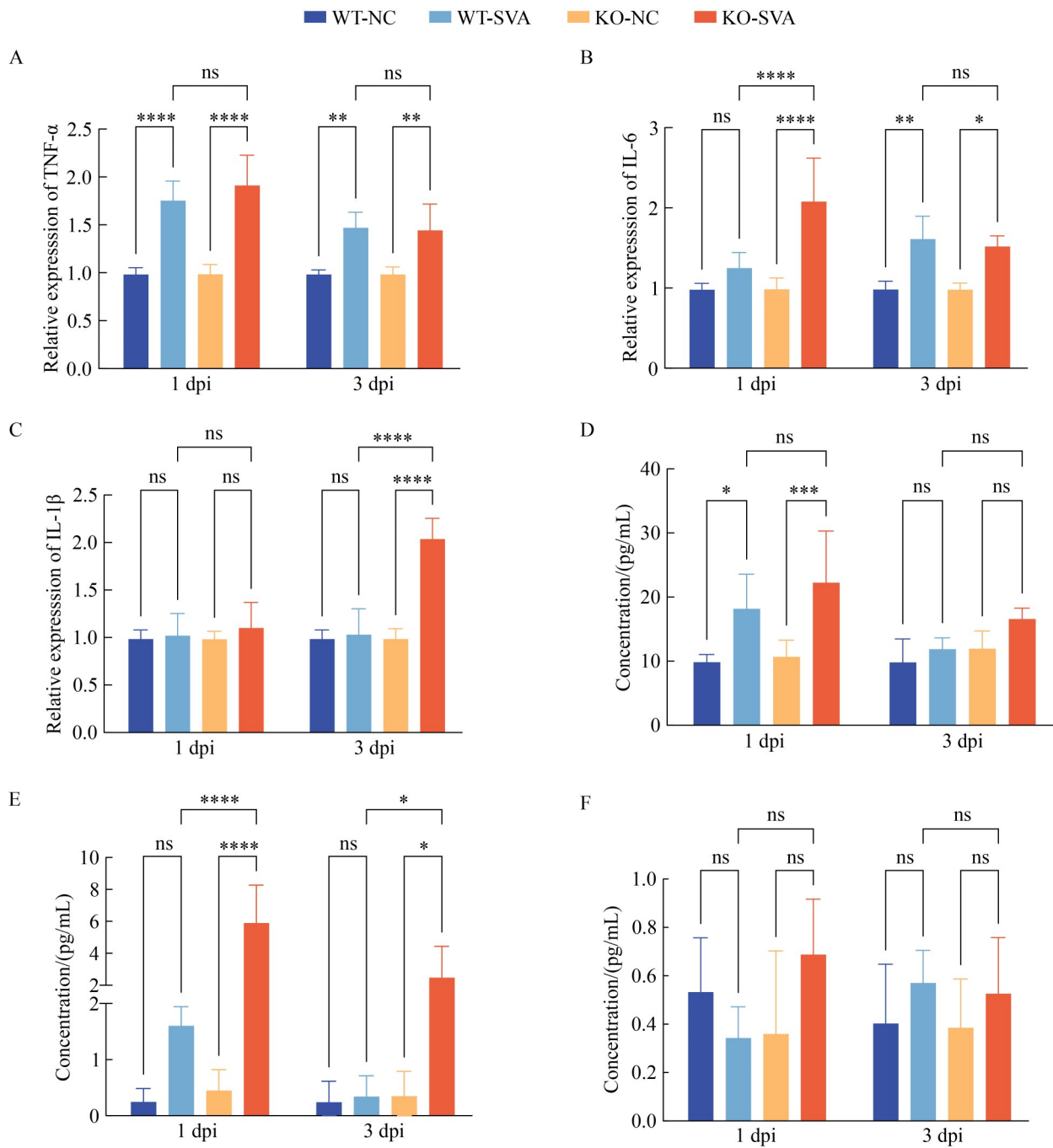


图8 SVA感染C57BL/6J WT和C57BL/6J *IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup>*小鼠腹股沟淋巴结和血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的表达水平

Figure 8 The expression levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  in the inguinal lymph nodes and serum of SVA-infected C57BL/6J WT and C57BL/6J *IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup>* mice. A: TNF- $\alpha$  mRNA levels in inguinal lymph nodes; B: IL-6 mRNA levels in inguinal lymph nodes; C: IL-1 $\beta$  mRNA levels in inguinal lymph nodes; D: TNF- $\alpha$  protein levels in serum; E: IL-6 protein levels in serum; F: IL-1 $\beta$  protein levels in serum. ns:  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

病毒 RNA 高效分布于肝、脾、肺、腹股沟淋巴结、大脑、心脏、肾、空肠及肠系膜淋巴结等组织，且以淋巴结、肝脏、脾脏的病毒载量最高，这与猪感染后以扁桃体-淋巴结-脾脏-肺-肝为主要靶器官的分布规律高度一致(小鼠无扁桃体)。皮下接种在可操作性、临床相似性与病毒载量之间取得了最佳平衡，因此被推荐为标准攻毒途径。

病毒血症是猪 SVA 感染早期最显著的标志性事件<sup>[12-13]</sup>，但此前的小鼠模型难以复制这一过程。本研究在 C57BL/6J<sup>IFNR<sup>-/-</sup></sup>小鼠中成功模拟了这一关键过程：血液病毒载量在 1 dpi 即达  $1 \times 10^6$  copies/mL，并于 3 dpi 达到峰值后迅速下降，重现了“短暂而高效”的宿主内传播模式。更重要的是，绝对定量 PCR 显示，病毒在多组织中呈现高度一致的“检出-指数扩增-清除”复制动力学曲线(1-3 dpi 病毒载量上升 1-3 log<sub>10</sub>)，这与病毒血症动态完全吻合，构成了病毒成功建立系统性感染的坚实证据。因此，尽管抗原原位定位受限于现有抗体工具未能实现，但本研究所呈现的完整定量动力学数据，已充分满足了验证一个新感染模型的核心要求。

从病理组织学变化来看，C57BL/6J<sup>IFNR<sup>-/-</sup></sup>小鼠呈现出“剂量-时间”依赖的显著病变：宏观可见淋巴结肿大、肝土黄色变、脾肿大；镜下呈现淋巴结皮质崩解、肝脏小叶坏死、脾白髓萎缩及肾小管变性，损伤程度较 WT 组显著加重，却未触发 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等风暴式升高，炎症因子仅在早期短暂上调后即回落，且蛋白水平均较低，因强烈的免疫反应易造成机体严重损伤<sup>[25-26]</sup>，这些特征与猪群“自限性恢复”的临床特征相符<sup>[12,27]</sup>，提示 SVA 致病机制以直接细胞损伤为主，而非过度炎症。此外，干扰素系统是宿主抵御病毒感染的第一道防线<sup>[28]</sup>。I 型干扰素受体缺失使 C57BL/6J<sup>IFNR<sup>-/-</sup></sup>小鼠无法启动经典的 IFN- $\alpha/\beta$ -JAK-STAT 抗病毒信号通路，导致病毒复制失控，病毒载量较 WT 组整体高 1-3 log<sub>10</sub>，直接证实干扰素系统在抑制 SVA 早期扩散中发挥核心作用，也为后续研究 SVA 与

宿主先天免疫交互、筛选干扰素佐剂或拮抗剂提供了直观平台。

综上所述，本研究成功建立并表征了 C57BL/6J WT 与 C57BL/6J<sup>IFNR<sup>-/-</sup></sup>小鼠的 SVA 感染模型，明确了最佳感染途径(皮下注射)、病毒组织分布规律及免疫应答特征。其中，C57BL/6J<sup>IFNR<sup>-/-</sup></sup>小鼠模型因能模拟猪的病毒血症特征，适用于病毒-宿主交互、抗病毒药物和疫苗效力评价；WT 小鼠成本低、操作简便，可用于病毒毒株毒力比较、中和抗体初筛及早期免疫机制探索。这 2 种模型互为补充，为 SVA 致病机制研究、防控产品快速评价及免疫策略优化提供了可靠、高效且经济的动物平台。

## 作者贡献声明

游灵巧：实验进行，稿件撰写与修改；张卿：文献检索与整理，稿件撰写与修改；高晟斌：数据收集与分析；付利芝：格式修改与校对，对文献查漏补缺；贾梅玉：文章框架构思与设计，项目支持，语言润色，监督管理；王玉娥：文章框架构思与设计，提供资源，稿件审阅与投稿，监督管理。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] Hales LM, Knowles NJ, Reddy PS, Xu L, Hay C, Hallenbeck PL. Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus[J]. *The Journal of General Virology*, 2008, 89(Pt 5): 1265-1275.
- [2] Pasma T, Davidson S, Shaw SL. Idiopathic vesicular disease in swine in Manitoba[J]. *The Canadian Veterinary Journal*, 2008, 49(1): 84-85.
- [3] 肖佳旭, 郭笑然, 赵款, 袁万哲. A 型塞内卡病毒研究进展[J]. *动物医学进展*, 2022, 43(4): 69-74.  
Xiao JX, Guo XR, Zhao K, Yuan WZ. Progress on Seneca virus A[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2022, 43(4): 69-74 (in Chinese).
- [4] Zhang JY, Zhang H, Sun WC, Jiao CC, Xiao PP, Han JC, Nan FL, Xie CZ, Ha Z, Li ZX, Xie YB, Meng Y, Lu HJ, Jin NY. Genetic evolution and epidemiological analysis of Seneca Valley virus (SVV) in China[J]. *Virus Research*, 2021, 291: 198177.
- [5] Li CY, Gao CL, Tao LF, Cui J, Zhang H, Zheng H, Wei

- R, Gu SP, Sha Z, Ni B. Epidemiological investigation of Senecavirus A infection in pig herds in China from 2018 to 2021[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2024, 11: 1391513.
- [6] Preis G, Sanhueza JM, Vilalta C, Vannucci FA, Culhane MR, Corzo CA. Senecavirus A seroprevalence and risk factors in United States pig farms[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, 9: 1011975.
- [7] 廖迎新, 范锦戴, 张梦茹, 刘晨晨, 章洋溢, 孙显月, 陈金顶, 赵明秋. A型塞内卡病毒研究进展[J]. *中国兽医学报*, 2021, 41(8): 1645-1650, 1657.
- Liao YX, Fan JD, Zhang MR, Liu CC, Zhang YY, Sun XY, Chen JD, Zhao MQ. Research progress of senecavirus A[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2021, 41(8): 1645-1650, 1657 (in Chinese).
- [8] 金雪蕾, 高凯. 塞内卡病毒病及其防控[J]. *中国畜牧业*, 2023(16): 124-125.
- [9] Baker KL, Mowrer C, Canon A, Linhares DCL, Rademacher C, Karriker LA, Holtkamp DJ. Systematic epidemiological investigations of cases of senecavirus a in US swine breeding herds[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017, 64(1): 11-18.
- [10] Liu C, Liu YH, Li XB, Liang L, Cui SJ. Pathogenicity analysis of weaned piglets challenged with novel emerging senecavirus a in Fujian, China[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 694110.
- [11] Zhang HW, Chen P, Hao GX, Liu WQ, Chen HC, Qian P, Li XM. Comparison of the pathogenicity of two different branches of senecavirus a strain in China[J]. *Pathogens*, 2020, 9(1): 39.
- [12] Joshi LR, Fernandes MHV, Clement T, Lawson S, Pillatzki A, Resende TP, Vannucci FA, Kutish GF, Nelson EA, Diel DG. Pathogenesis of Senecavirus A infection in finishing pigs[J]. *The Journal of General Virology*, 2016, 97(12): 3267-3279.
- [13] Chen ZH, Yuan FF, Li YH, Shang PC, Schroeder R, Lechtenberg K, Henningson J, Hause B, Bai JF, Rowland RRR, Clavijo A, Fang Y. Construction and characterization of a full-length cDNA infectious clone of emerging porcine Senecavirus A[J]. *Virology*, 2016, 497: 111-124.
- [14] Koppers-Lalic D, Hoeben RC. Non-human viruses developed as therapeutic agent for use in humans[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2011, 21(4): 227-239.
- [15] Zhou X, Liang WF, Si GB, Li JH, Chen ZF, Cai WY, Lv DH, Wen XH, Zhai Q, Zhai SL, Liao M, He DS. Buffalo-origin Seneca valley virus in China: first report, isolation, genome characterization, and evolution analysis[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 730701.
- [16] Zhang JY, Li CH, Meng Y, Xie YB, Shi N, Zhang H, Yu CD, Nan FL, Xie CZ, Ha Z, Han JC, Li ZX, Li QX, Wang P, Gao X, Jin NY, Lu HJ. Pathogenicity of Seneca Valley virus in pigs and detection in *Culicoides* from an infected pig farm[J]. *Virology Journal*, 2021, 18(1): 209.
- [17] Joshi LR, Mohr KA, Clement T, Hain KS, Myers B, Yaros J, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Gava D, Schaefer R, Caron L, Dee S, Diel DG. Detection of the emerging picornavirus senecavirus a in pigs, mice, and houseflies[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2016, 54(6): 1536-1545.
- [18] Turner JH, Paim WP, Maggioli MF, Peter CM, Miknis R, Talley J, Bauermann FV. Prolonged viability of senecavirus a in exposed house flies (*Musca domestica*)[J]. *Viruses*, 2022, 14(1): 127.
- [19] Rosa RB, de Castro EF, de Oliveira Santos D, da Silva MV, Pena LJ. Mouse models of mayaro virus[J]. *Viruses*, 2023, 15(9): 1803.
- [20] Ariizumi T, Tabata K, Itakura Y, Kobayashi H, Hall WW, Sasaki M, Sawa H, Matsuno K, Orba Y. Establishment of a lethal mouse model of emerging tick-borne orthonairovirus infections[J]. *PLoS Pathogens*, 2024, 20(3): e1012101.
- [21] Li N, Qiao QL, Guo HF, Wang BY, Huang Q, Wang Z, Li YT, Zhao J. Evaluation of immunogenicity and protective efficacy of a novel Senecavirus A strain-based inactivated vaccine in mice[J]. *Research in Veterinary Science*, 2022, 142: 133-140.
- [22] De Oliveira Barbosa A, Gava D, Tochetto C, Ribeiro LC, Almeida Bastos AP, Morés MAZ, Schaefer R, de Lima M. Immunogenicity of an inactivated senecavirus a vaccine with a contemporary Brazilian strain in mice[J]. *Vaccines*, 2024, 12(8): 845.
- [23] Wang BL, Gao F, Hu RJ, Huyan H, Wang GL, Cao ZZ, Zhao Y, Lu HJ, Song DG, Gao F, He WQ, Lan YG. Development and evaluation of inactivated vaccines incorporating a novel Senecavirus A strain-based immunogen and various adjuvants in mice[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2024, 11: 1376678.
- [24] Zhao WY, Zhang SH, Sui L, Wang XN, Li JX, Cui W, Jiang YP, Qiao XY, Tang LJ. Inhibitory effects of bovine lactoferricin-lactoferrampin on senecavirus a and foot-and-mouth disease virus with recombinant *Lactobacillus* oral treatment in mice[J]. *Veterinary Sciences*, 2025, 12(3): 199.
- [25] 周恩禄, 孙军平, 张明月, 韩欣洁, 王浚宇, 汪建新. 55型人腺病毒致hDSG2转基因小鼠肺感染动物模型的建立及意义[J]. *解放军医学院学报*, 2023, 44(8): 868-872, 902.
- Zhou EL, Sun JP, Zhang MY, Han XJ, Wang JY, Wang JX. Establishment and significance of hDSG2 transgenic mice lung infection model induced by human adenovirus type 55[J]. *Academic Journal of Chinese PLA Medical School*, 2023, 44(8): 868-872, 902 (in Chinese).
- [26] Hu BY, Huang SY, Yin LH. The cytokine storm and COVID-19[J]. *Journal of Medical Virology*, 2021, 93(1): 250-256.
- [27] Dong YB, Wen JC, Guo CY, Li J, Yan JF, Li MJ, Jiang T, Gao YN, Wang XW, Jiang P, Bai J. Evolutionary characterization and pathogenicity of Senecavirus isolated from Shandong, China[J]. *Virus Research*, 2025, 360: 199618.
- [28] 蔡镇远, 陈文哲, 杨发誉, 魏衍全, 何继军, 郑海学, 包世俊, 朱紫祥. 宿主线粒体通道蛋白促进干扰素应答抑制口蹄疫病毒复制的分子机制[J]. *微生物学报*, 2025, 65(9): 3935-3945.
- Cai ZY, Chen WZ, Yang FY, Wei YQ, He JJ, Zheng HX, Bao SJ, Zhu ZX. Voltage dependent anion-selective channel 2 promotes interferon response to inhibit foot-and-mouth disease virus replication[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(9): 3935-3945 (in Chinese).