

·论著·

昆明-无毛小鼠生物学特性的研究

沈秀 刘晓秋 周则卫 杨福军 张晓东 龙伟 王浩 洪阁 徐文清

【摘要】目的 观察新品系昆明-无毛小鼠在正常、照射及接种肿瘤情况下的生物学指标。

方法 ①测定正常昆明小鼠和正常昆明-无毛小鼠的各项生理指标；②将昆明小鼠和昆明-无毛小鼠同时接种上肿瘤（肝癌 H22、白血病 L1210），观察其生长情况；③昆明小鼠和昆明-无毛小鼠接受¹³⁷Cs 源 γ 射线照射后，观察白细胞、胸腺系数、脾系数等各项生理指标。结果 昆明小鼠与昆明-无毛小鼠正常指标之间无显著差异，只是昆明-无毛小鼠的胸腺略小一些；昆明-无毛小鼠和昆明小鼠接种上两种肿瘤后，肿瘤生长情况均较好；昆明小鼠和昆明-无毛小鼠接受¹³⁷Cs 源 γ 射线照射后，白细胞计数、胸腺系数、脾系数等各项生理指标均明显下降。结论 作为纯系小鼠的昆明-无毛小鼠具备昆明小鼠的生物学特性，可应用于科学实验研究。

【关键词】肝肿瘤，实验性；白血病 L1210；昆明-无毛小鼠；昆明小鼠

Biological characteristic of Kunming-hairless mice SHEN Xiu, LIU Xiao-qiu, ZHOU Ze-wei, YANG Fu-jun, ZHANG Xiao-dong, LONG Wei, WANG Hao, HONG Ge, XU Wen-qing. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

Corresponding author: XU Wen-qing, Email: xuwenqing67@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To observe the biological parameters of the new strain Kunming-hairless mice on the condition of normal, irradiation and tumor-implanting. Methods ①The physiological parameters of normal Kunming mice and normal Kunming-hairless mice were observed. ②After being inoculated with hepatic carcinoma H22, leukemia L1210, tumor growth of the two kinds of mice was observed. ③White blood cell count, thymus index and spleen index parameters were observed after irradiation by ¹³⁷Cs γ-ray. Results The differences of normal parameters between Kunming mice and Kunming-hairless mice were not significant, but the immune parameter-thymuses of Kunming-hairless mice were smaller than that of Kunming mice, tumors growth after implantation were quite well in both strain Kunming and Kunming-hairless mice. Conclusion As pure strain animal, Kunming-hairless mice possesses biological traits of Kunming mice, it can be applied to the sciences experiment.

【Key words】Liver neoplasms, experimental; Leukemia L1210; Kunming-Hairless mice; Kunming mice

实验动物的价值已不限于生物科学方面，其还广泛应用于多种领域的科学实验研究。小鼠基因与人类具有良好的同源性且其在生命科学和医药研究方面的应用颇为广泛^[1-2]，昆明-无毛小鼠是更具有特色的新品系鼠群，属于基因自发突变动物^[3]，是本所动物室自己繁殖培育的 24 代近交系小鼠，它是在昆明小鼠饲养过程中发现的，是一种皮肤和

毛发结构发生遗传变异的品系，此鼠有胸腺^[4]，全身只有约 1 mm、层次不齐的小绒毛，皮肤清晰可见，此鼠与裸鼠类似，但不同于裸鼠，裸鼠无免疫器官胸腺，抵抗力差，生育能力低，寿命短，是缺陷表现型，需要在屏蔽系统里生长；而昆明-无毛小鼠有胸腺，可在普通环境中生长，具有一定的抵抗力，属于生育能力较高的新品系。

1 材料与方法

1.1 材料

动物：昆明-无毛小鼠由本所动物室繁殖培育，昆明小鼠由天津实验动物中心提供；癌源：腹水瘤

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.02.003

基金项目：天津市科技发展计划项目(05YFGPGX07200)

作者单位：300192 天津，中国医学科学院放射医学研究所，天津市分子核医学重点实验室

通信作者：徐文清 (Email: xuwenqing67@yahoo.com.cn)

小鼠肝癌(H22)、白血病(L1210)由天津医药科学研究所提供;照射源: ^{137}Cs 源 γ 射线由本所提供;仪器:紫外可见分光光度计由上海光谱仪器有限公司提供,荧光显微镜BX53由日本奥林巴斯公司提供;电子天平由奥豪斯仪器上海有限公司提供;三分类血细胞分析仪由深圳迈瑞公司提供。试剂:氯化钙由天津市人船化学试剂科技有限公司提供、高氯酸由天津市东方化工厂提供、冰醋酸由天津市登科化学有限公司提供(分析纯)。

1.2 方法

1.2.1 正常饲养条件下生理指标的测定

分别取10只昆明小鼠和10只昆明-无毛小鼠,雌雄各半,体质量20~23 g,称重后,眼球取血,用血细胞计数仪计数外周血白细胞、红细胞、血红蛋白和血小板的数量;颈椎脱臼处死后,取出脾脏、胸腺及肝脏称重,并按下列方法计算出脾系数、肝系数和胸腺系数:

脾系数=脾脏质量(mg)/小鼠体质量(g)

肝系数=肝脏质量(g)/小鼠体质量(g)

胸腺系数=胸腺质量(mg)/小鼠体质量(g)

再取出两侧股骨分别冲出骨髓,测定骨髓有核细胞计数和骨髓DNA含量,测定方法如下。

测定骨髓有核细胞计数:配制3%的醋酸溶液,取10 ml/管,取出一侧股骨后将骨髓冲入管中,摇匀,滴入血球计数板中在显微镜下计数股骨有核细胞数。

测定骨髓DNA含量:取一侧股骨,用0.005 mol/L CaCl_2 溶液,10 ml/管,将骨髓全部冲入离心管中,离心沉淀蛋白(离心半径为16 cm,2500 r/min,离心15 min),加入0.2 mol/L HClO_4 溶液,5 ml/管,酸化、加热、过滤后,在紫外可见分光光度计268 nm处测定吸光度,DNA含量用吸光度/只(股骨)表示。

1.2.2 荷瘤鼠生理指标的测定和生长状态的观察

(1)取昆明小鼠和昆明-无毛小鼠各8只,雌雄各半,体质量18~20 g,昆明-无毛小鼠和昆明小鼠随机各分为2个实验组,4只/组,用腹水型肿瘤悬液移植法^[5],在灭菌的条件下,分别取生长较好

的传有肝癌H22和白血病L1210 7~8 d后的腹水瘤小鼠,将其颈椎脱臼处死,用酒精棉擦拭腹部消毒后,用针管取出腹水瘤分别传种至昆明-无毛小鼠和昆明小鼠各实验组小鼠的腹腔内,0.2 ml/只,待小鼠饲养至7~8 d后观察肿瘤长势及其腹部是否可以继续传种。

(2)取昆明小鼠和昆明-无毛小鼠各20只,体质量18~20 g,雌雄各半,昆明小鼠和昆明-无毛小鼠随机各分为2个实验组,10只/组,用腹水型肿瘤悬液移植法,将长势较好的7~8 d的腹水瘤肝癌H22和白血病L1210的肿瘤小鼠颈椎脱臼处死,用酒精消毒腹部,取出腹水瘤,分别按1:1的比例用生理盐水稀释后接种,0.2 ml/只,分别接种在各实验组小鼠右上肢腋窝皮下,肿瘤细胞计数分别为:H22: 1.5×10^7 个/ml, L1210: 1.8×10^7 个/ml,接种后饲养9 d,在第10日时,将小鼠称重后颈椎脱臼处死,取出实体肿瘤、脾脏、胸腺及肝脏称重,同上述方法计算出脾系数、肝系数和胸腺系数。

1.2.3 辐照条件下生理指标的测定

取昆明小鼠和昆明-无毛小鼠各20只,体质量18~20 g,雌雄各半,昆明小鼠和昆明-无毛小鼠随机各分为2个实验组,10只/组。一组不照射,一组用 ^{137}Cs 源 γ 射线一次性全身照射,照射剂量为5 Gy,剂量率0.7511 Gy/min,照射后饲养7 d,第8日称重,眼球取血,测定各项生理指标,用Bouin氏固定液固定脾脏6 h后计数脾结节数。

1.2.4 统计学分析

采用SPSS6.0软件进行统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 正常饲养条件下各项指标的比较

昆明小鼠和昆明-无毛小鼠在正常饲养条件下的各项生理指标之间无明显差异,只是昆明-无毛小鼠的胸腺略小些,均在正常范围内,但昆明-无毛小鼠各项指标的标准差较小,见表1和表2。

表1 昆明小鼠和昆明-无毛小鼠在正常饲养条件下外周血各项指标的比较($\bar{x} \pm s$)

| 鼠种 | 只数 | 白细胞计数($\times 10^9/\text{L}$) | 红细胞计数($\times 10^{12}/\text{L}$) | 血红蛋白计数(g/L) | 血小板计数($\times 10^9/\text{L}$) |
|---------|----|---------------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| 昆明小鼠 | 10 | 6.17 \pm 1.60 | 7.78 \pm 0.57 | 119.00 \pm 7.71 | 357.58 \pm 77.27 |
| 昆明-无毛小鼠 | 10 | 5.83 \pm 1.07 | 7.70 \pm 0.52 | 121.22 \pm 6.78 | 287.66 \pm 52.11 |

表2 昆明小鼠和昆明-无毛小鼠在正常饲养条件下体质量、造血及免疫指标的比较($\bar{x}\pm s$)

| 鼠种 | 只数 | 体质量(g) | 脾系数(mg/g) | 胸腺系数(mg/g) | 肝系数(g/g) | 骨髓有核细胞计数($\times 10^6$) | 骨髓DNA含量(吸光度值/只) |
|---------|----|-----------|-----------|------------|------------|---------------------------|-----------------|
| 昆明小鼠 | 10 | 22.3±0.31 | 4.84±1.53 | 3.65±0.97 | 0.077±0.27 | 12.36±1.87 | 1.39±0.25 |
| 昆明-无毛小鼠 | 10 | 22.5±0.23 | 5.20±0.58 | 2.28±0.58 | 0.074±0.14 | 12.43±1.10 | 1.13±0.12 |

2.2 传种肿瘤后各项指标间的比较

宿主昆明-无毛小鼠接种长势较好的7~8 d的腹水瘤,无论是肝癌H22还是白血病L1210,接种后肿瘤的长势都较好;昆明-无毛小鼠和昆明小鼠传种比较,无论是小鼠生长天数还是肿瘤细胞的生长,均无明显差异。

2.3 接种肿瘤后各项指标间的比较

宿主昆明-无毛小鼠和昆明小鼠接种腹水瘤,生长7~9 d后,肝癌H22和白血病L1210均长成实体瘤。昆明-无毛小鼠和昆明小鼠接种腹水瘤后,肿瘤的生长及各项生理指标间的差别不大,瘤重、脾系数、胸腺系数及肝系数等各项指标也无明显差异,但昆明-无毛小鼠各项指标的标准差较小(表3)。

2.4 辐照条件下各项指标的比较

经5 Gy γ 射线照射后,昆明小鼠的体质量增长、胸腺系数、白细胞计数、骨髓有核细胞计数、骨髓DNA含量、脾系数、脾结节数与同类小鼠未受照射组相比,差异有统计学意义($t=2.73, P<0.05; t=5.54, P<0.01; t=7.86, P<0.01; t=8.10, P<0.01; t=8.39, P<0.01; t=8.38, P<0.01; t=3.10, P<0.01$);昆明小鼠的肝系数与同类小鼠未受照射组相比,两者之间无明显差异。经5 Gy γ 射线照射后,昆明-无毛小鼠的体质量增长、胸腺系数、白细胞计数、骨髓有核细胞计数、骨髓DNA含量、

脾系数、脾结节数与同类小鼠未受照射组相比,差异有统计学意义($t=3.11, P<0.01; t=6.58, P<0.01; t=10.76, P<0.01; t=9.35, P<0.01; t=14.06, P<0.01; t=10.84, P<0.01; t=2.79, P<0.05$),昆明-无毛小鼠的肝系数与同类小鼠未受照射组相比,两者之间无明显差异(表4)。

3 讨论

实验动物是保证现代科学实验研究的一个必不可少的条件。其贯通于多科学,诸如生物学、遗传学、生殖生理学、人类营养学、免疫学等,以及疾病的预防、诊断和治疗中^[6-7]。在很多领域的科学研究中,合格的实验动物是保证实验结果准确、有效的前提条件。实验动物是在一定条件下由人工饲养繁殖的,具有特定的生物学特性^[8]。昆明-无毛小鼠是昆明小鼠的变异种,其出生时具有胸腺,是可在普通的二级动物设施环境下生长的新品系^[9],本研究同时对比了昆明小鼠和昆明-无毛小鼠对肿瘤细胞和射线的敏感性,结果表明,昆明-无毛小鼠无论是直取源癌液或稀释后接种H22或L1210肿瘤细胞,都能良好地生长,说明宿主对肿瘤细胞敏感,鉴于昆明-无毛小鼠全身几乎无毛,当其接上肿瘤时较之昆明鼠更容易鉴别、观察肿瘤的大小及

(下转第87页)

表3 昆明小鼠和昆明-无毛小鼠移植腹水瘤7~9 d后的瘤重及生理指标的比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 只数 | 瘤重(g) | 脾系数(mg/g) | 胸腺系数(mg/g) | 肝系数(g/g) |
|---------------|----|-----------|------------|------------|------------|
| 荷H22昆明小鼠 | 10 | 2.09±1.06 | 14.95±4.15 | 3.11±1.05 | 0.081±0.22 |
| 荷H22昆明-无毛小鼠 | 10 | 2.96±0.54 | 12.46±2.09 | 2.01±0.49 | 0.072±0.19 |
| 荷L1210昆明小鼠 | 10 | 2.17±1.21 | 13.21±3.74 | 3.30±0.96 | 0.083±0.28 |
| 荷L1210昆明-无毛小鼠 | 10 | 2.79±0.42 | 13.19±1.88 | 2.23±0.17 | 0.079±0.21 |

表4 昆明小鼠和昆明-无毛小鼠经5 Gy γ 射线照射后相关指标受损的比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 只数 | 体质量增长(g) | 胸腺系数(mg/g) | 肝系数(g/g) | 白细胞计数($\times 10^9/L$) | 骨髓有核细胞计数($\times 10^6$) | 骨髓DNA含量(吸光度值/只) | 脾系数(mg/g) | 脾结节数(个/脾) |
|-----------|----|-----------|------------|------------|--------------------------|---------------------------|-----------------|-----------|-----------|
| 昆明小鼠 | 10 | 2.63±1.56 | 3.28±1.11 | 0.064±0.56 | 5.88±1.18 | 13.28±3.35 | 1.43±0.34 | 4.63±1.02 | 0 |
| 受照昆明小鼠 | 10 | 1.01±1.05 | 1.01±0.67 | 0.057±0.43 | 2.10±0.96 | 3.06±2.17 | 0.37±0.21 | 1.26±0.76 | 1.12±1.14 |
| 昆明-无毛小鼠 | 10 | 2.25±1.18 | 2.52±0.74 | 0.051±0.25 | 5.71±0.92 | 12.79±2.76 | 1.28±0.17 | 4.52±0.85 | 0 |
| 受照昆明-无毛小鼠 | 10 | 0.86±0.78 | 0.79±0.38 | 0.049±0.23 | 2.04±0.56 | 3.53±1.48 | 0.38±0.11 | 1.41±0.32 | 1.05±1.23 |

逐渐显现。有研究表明, MRI 的影像学表现与乳腺癌的生物预后因子之间存在一定的相关性, 对于评价乳腺癌的生物学行为和预后有一定的参考价值^[7-9]。据此, ¹⁸F-FDG PET/CT 和 MRI 联合显像在乳腺癌的预后判断中是否具有更高的价值? 本研究结果表明, 18 例乳腺浸润性导管癌患者 ¹⁸F-FDG PET/CT 显像乳腺癌病灶 SUV_{max} 与 Ki-67 表达水平呈正相关, 而 PET/CT 和 3.0T MRI 联合显像总评分与 Ki-67 表达水平呈明显正相关, 提示 ¹⁸F-FDG PET/CT 和 3.0T MRI 联合显像结果与肿瘤细胞增殖活性标志物 Ki-67 的相关性明显高于单纯 SUV_{max}, 预示着 PET/CT 和 3.0T MRI 联合显像在判断乳腺癌预后方面可能具有更高的潜在价值。

综上所述, ¹⁸F-FDG PET/CT 和 3.0T MRI 联合显像评分与反映肿瘤细胞增殖活性的重要标志物 Ki-67 的表达水平呈显著正相关。联合显像综合了肿瘤的葡萄糖代谢、形态学特征和动态增强参数等多方位信息的优势, 可能在乳腺癌患者的预后评估方面具有更高的潜在价值。

参 考 文 献

- [1] Kuhl CK, Mielcarek P, Klaschik S, et al. Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful for differential

diagnosis of enhancing lesion?. Radiology, 1999, 211(1): 101-110.

- [2] de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12155 patients. Br J Cancer, 2007, 96(10): 1504-1513.
- [3] Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, et al. Predictive value of tumor Ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(3): 207-212.
- [4] Avril N, Menzel M, Dose J, et al. Glucose metabolism of breast cancer assessed by ¹⁸F-FDG PET: histologic and immunohistochemical tissue analysis. J Nucl Med, 2001, 42(1): 9-16.
- [5] Eberlein TJ. Current management of carcinoma of the breast. Ann Surg, 1994, 220(2): 121-136.
- [6] 贾臻, 章英剑, 胡夕春. 乳腺癌 ER、PR 及 Her-2 的表达状态与 ¹⁸F-FDG 摄取的研究进展. 中国癌症杂志, 2011, 21(10): 807-811.
- [7] 徐慧, 贾文霄, 周梅. 乳腺癌动态增强 MRI 表现与病理、分子预后指标的相关性分析. 中国医学影像杂志, 2011, 19(2): 121-128.
- [8] 王美芹, 董珉, 徐新宇. 乳腺癌 MRI 表现与免疫组化相关性的初步研究. 医学影像学杂志, 2010, 20(8): 1130-1133.
- [9] 舒虹, 梅金红, 谭亚敏, 等. 乳腺癌 MRI 形态学表现与 ER、PR、CerbB-2 及 Ki-67 相关性研究. 实用临床医学, 2011, 12(8): 97-100.

(收稿日期: 2012-11-08)

(上接第 76 页)

形状; 当昆明-无毛小鼠受到射线照射后, 其造血系统及免疫系统等多项生理指标与未照射小鼠相比均显著下降, 说明此鼠对射线易感, 由此表明, 昆明-无毛小鼠可用于抗肿瘤(肝癌 H22、白血病 L1210)的实验和抗辐射实验。它具备封闭群小鼠(普通级)——昆明小鼠的一般特性, 因此以其作为实验用鼠, 研究结果将更具科学性、准确性和可靠性。

参 考 文 献

- [1] Mouse Genome Sequencing Consortium, Waterston RH, Lindblad-Toh K, et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. Nature, 2002, 420(6915): 520-562.
- [2] 张连峰. 我国常用实验动物资源的现状及对未来发展的思考.

中国比较医学杂志, 2011, 21(10): 39-44.

- [3] 徐平. 实验动物资源开发、保存和共享利用. 中国比较医学杂志, 2011, 21(10): 48-56.
- [4] 沈秀, 周则卫, 王映兰, 等. KM-HL 近交系小鼠对肿瘤细胞敏感性的研究. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(5): 332-334.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 2 版, 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1423-1430.
- [6] 李雪萍, 高永翔, 王强, 等. 浅谈实验动物的保护及其福利. 中西医结合研究, 2012, 4(5): 276-278.
- [7] Traka MH, Mithen RF. Plant science and human nutrition: challenges in assessing health-promoting properties of phytochemicals. Plant Cell, 2011, 23(7): 2483-2497.
- [8] 金玫蕾. 我国实验动物科学带来的动物伦理及福利问题. 生命科学, 2012, 24(11): 1325-1329.
- [9] 王映兰. 无毛小鼠繁育及其特性的初步观察. 实验动物科学与管理, 2003, 20 suppl 1: S133-134.

(收稿日期: 2012-07-20)