

近交系 KM—HL鼠白细胞减少症模型的建立

沈 秀,周则卫,王映兰,王 文,洪 阁

中图分类号: Q952.5 R557 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)02-0140-02

【摘要】 目的 为昆明—无毛鼠(KM—HL)作为白细胞减少症模型实验用鼠提供理论依据。方法 分别对 KM—HL鼠①用环磷酰胺(CY);②用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy剂量率为: 0.80645CY/m²致小鼠白细胞减少症,取样对其血液、造血系统、免疫及心脏、肝脏等生理指标的变化情况进行测试研究。结果 研究表明正常 KM—HL在白细胞减少症的实验中,WBC、DNA、脾脏、胸腺、心脏等一些生理指标与对照组比较都受损较重($P < 0.001$),但 CY组的肝脏与对照比受损较轻,无统计学意义。结论 KM—HL鼠无论用 CY还是用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy其血液、造血系统、免疫及心脏、肝脏等生理指标与对照组比都有所下降($P < 0.001$),可做白细胞减少症的实验用鼠。

【关键词】 KM—HL鼠;造血系统;免疫指标;WBC;CY

The Establishment of Leucopenia Model on KM—HL Mice SHEN Xi-ju, ZHOU Ze-wei, WANG Yin-lan, et al Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192 China

【Abstract】 Objective To provide theoretical foundations for KM—HL mice used as experimental mice on leucopenia model. Methods Cyclophosphamide and ¹³⁷Cs source γ rays irradiated at 7.5Gy once the whole body (dose rate: 0.80645 Gy/m²) were given on KM—HL mice to induce mice leucopenia model. Samples were obtained to examine the variation of physiological indexes such as blood hemopoietic system, immunity, heart and liver etc. Results The research shows in normal KM—HL mice in the leucopenia experiment, some of the physiological indexes of WBC, DNA, spleen, thymus, heart shows that they are deeply injured ($P < 0.001$), only the cyclophosphamide groups liver is lightly injured without any statistic difference. Conclusion Either giving cyclophosphamide or ¹³⁷Cs source γ rays irradiating once all over the body, the physiological indexes such as blood hemopoietic system, immunity, heart and liver etc of KM—HL mice are descended compared with the control group ($P < 0.001$), therefore it can be used as experimental mice on leucopenia.

【Key words】 KM—HL Mice; Hemopoietic System; Immunity; White Blood Cell; Cyclophosphamide

实验动物科学现在已经成为现代科学技术不可分割的一个组成部分,是生命科学的基础和条件。随着现代科学的进步,人类更需要有特色的新品系鼠群进行科学研究,无毛鼠就属于此类。昆明—无毛鼠(KM—HL)是本所动物室自己繁殖培养的近交系小鼠,是在昆明鼠饲养过程中发现并培育了 24 代的无毛小鼠^[1],该鼠有胸腺且可在普通环境中生长,其各项生理指标比 KM—ICR 等封闭群鼠系稳定,因此以其作为实验用鼠,研究结果更具科学性。

1 材料与方法:

1.1 材料 KM—HL鼠是本所动物室提供,环磷酰胺(CY)(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:05121421);¹³⁷Cs源—γ射线为本所钴源。T6新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);OLYMPUS电子显微镜和 1/1000 电子天平(梅特勒—托利多仪器有限公司);冰醋酸、氯化钙、高氯酸等试剂。

1.2 方法

1.2.1 环磷酰胺(CY)致白细胞减少症^[2] 取 KM—HL小鼠 14 只,雌雄各半,体重 20—24g 随机分为 2 组,对照组和给药组,7 只/组。对照组腹腔注射生理盐水,每日一次连续 4d 按小鼠体重每 10^g给 0.1mL 注射;白细胞降低剂:环磷酰胺(CY),CY 浓度为 100mg/kg 每日一次连续 4d 给药,按小鼠体重每 10^g给 0.1mL 腹腔注射,第 5d 取各项生理指标测定。

1.2.2 辐照致白细胞减少症 取 KM—HL小鼠 20 只,雌雄各

半,体重 25~26g 随机分为 2 组,对照组和照射组,10 只/组,对照组不照射,照射组将小鼠放在周围有孔的照射盒中,采用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy 剂量率为: 0.80645CY/m²照射后饲养 6d 第 7 天取各项生理指标测定。

1.2.3 白细胞(white blood cell WBC) ①给环磷酰胺后,第 5 天眼眶取血;②采用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy 后,第 7 天眼眶取血。分别取 20μL/鼠,用白细胞稀释液稀释后,电子显微镜下计数 WBC 数。

1.2.4 生理指标 ①给环磷酰胺(CY)后,第 5 天称体重;然后将小鼠脱臼处死取心脏、肝脏、脾脏、胸腺称重。②¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy 后,第 7 天称体重,然后将小鼠脱臼处死取肝脏、脾脏、胸腺称重,用 Bouin 氏液固定脾并计数脾结节数。以上的脾和胸腺可按下式计算脾指数和胸腺指数。

脾指数 = 脾重(mg) / 鼠重(g)

胸腺指数 = 胸腺重(mg) / 鼠重(g)

1.2.5 骨髓 DNA 含量 ①给环磷酰胺(CY)后,第 5 天将小鼠颈部脱臼处死,取一侧股骨,用 0.005mol/L CaCl₂ 将骨髓全部冲入离心管中,离心沉淀蛋白质,加 0.2mol/L HClO₄ 溶解、加热、过滤,滤液在紫外可见分光光度计 268nm 处测定吸光度(OD 值),骨髓 DNA 含量用吸光度(A)/只(股骨)表示。②用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射 7.5Gy 饲养 6d 后,第 7 天取一侧股骨测骨髓 DNA 含量,取样和测量方法同上。

1.2.6 计数脾结节 用¹³⁷Cs源—γ射线全身一次性照射后,取出脾称重然后用 Bouin 氏液固定 6h 后计数脾结节数。

2 结果

KM—HL 鼠腹腔注射环磷酰胺后,其白细胞、骨髓 DNA 含量、脾脏、胸腺、体重、心脏等都受损较重($P < 0.001$),脾脏、胸

基金项目:天津市科技发展计划项目 05 YFGGX 07200

作者单位:中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192

作者简介:沈秀(1960~),女,副研究员。研究方向:辐射生物学、抗肿瘤药物和实验动物学。

腺用脾指数 (mg/g)和胸腺指数 (mg/g)来表示, 肝脏虽然受损较轻但与对照组比也有所下降, 见表 1 2

KM—HL鼠采用¹³⁷Cs源— γ 射线全身一次性照射 7.5Gy后, 其白细胞、骨髓 DNA含量、脾脏、胸腺、体重、肝脏等都受损较重 ($P<0.001$), 脾脏、胸腺用脾指数 (mg/g)和胸腺指数 (mg/g)来表示。照射后脾结节数与对照比有所增加, 但差异无显著性, 见表 3 4 5。

表 2 KM—HL鼠注射 Gy后免疫指标下降及其他指标受损表

组别	n	胸腺指数 (mg/g)	体重增长 (g)	心脏重 (g)	肝脏重 (g)
对照	7	2.700±0.600	+2.800±1.643	0.139±0.011	1.390±0.280
给药	7	0.334±0.385 ¹⁾	-2.456±2.363 ¹⁾	0.114±0.016 ¹⁾	1.129±0.267

注: 1) 和对照组比 $P<0.001$ 。

表 3 KM—HL鼠照射后的血液和体重受损表

组别	n	白细胞 ($\times 10^9/L$)	体重增长 (g)
对照	10	4.833±0.477	2.36±1.29
照射	10	0.338±0.103 ¹⁾	-6.60±1.07 ¹⁾

注: 1) 和对照组比 $P<0.001$ 。

表 4 KM—HL鼠照射后造血系统受损情况表

组别	n	DNA(A/只)	脾指数 (mg/g)	脾结节
对照组	10	1.130±0.121	5.130±0.800	0.000±0.000
照射组	10	0.061±0.020 ¹⁾	1.007±0.422 ¹⁾	0.100±0.316

注: 1)和对照组比 $P<0.001$ 。

表 5 KM—HL鼠照射后免疫指标下降及肝重受损表

组别	n	胸腺指数 (mg/g)	肝脏重 (g)
对照组	10	2.016±0.522	1.553±0.183
照射组	10	0.470±0.291 ¹⁾	0.771±0.152 ¹⁾

注: 1) 和对照组比 $P<0.001$ 。

3 结论

①在白细胞减少症模型实验中, KM—HL鼠注射 Cy后, 血液和造血系统的 WBC 骨髓 DNA含量、脾脏和对照比都受损较重 ($P<0.001$); 免疫指标胸腺及体重、心脏等和对照比也都受损较重 ($P<0.001$); 只有肝脏与对照比受损较轻, 无统计学意义; ② KM—HL鼠受¹³⁷Cs源— γ 射线全身一次性照射 7.5Gy后, 血液、造血系统的 WBC 骨髓 DNA含量、脾脏和对照比都受损较重 ($P<0.001$); 造血系统的脾结节有所增加但无统计学意

统计方法: 数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。
表 1 KM—HL鼠注射 Cy后血液及造血系统受损情况表

组别	n	白细胞 ($\times 10^9/L$)	DNA(A/只)	脾指数 (mg/g)
对照	7	5.685±1.110	1.501±0.250	5.130±0.800
给药	7	0.765±0.280 ¹⁾	0.201±0.045 ¹⁾	1.007±0.422 ¹⁾

注: 1)和对照组比 $P<0.001$ 。

义; 免疫指标胸腺及体重、肝脏等和对照比也都受损较重 ($P<0.001$)。由此实验结果得出该鼠可作为白细胞减少症的实验用鼠, 用环磷酰胺或辐射照射两种方法都可行。

4 讨论

在很多领域的科学研究中, 实验动物充当着非常重要的安全试验、效果试验、标准试验的角色。在生命科学领域内一切研究课题的确立, 成果水平的高低, 都决定于实验动物的质量, 因此有特色的实验动物尤为重要。KM—HL鼠出生时具有胸腺, 是可在普通的二级动物设施环境下生长^[3]的新品系, 此鼠不同于裸体小鼠 (Outbred Nude Mice), 裸鼠无胸腺, 抵抗力差, 饲养条件比较严格, 繁殖成活率低, 成本高。而 KM—HL鼠可以在普通环境下生长。KM—HL鼠还可以以多种方式接种 S₈₀、U₁₄等肿瘤都能生长良好^[2], 本项白细胞减少症的实验也获成功, 因此该鼠可作为白细胞减少症的实验用鼠; 还可做为一些肿瘤实验的实验用鼠, 该鼠的其他指标有待于继续深入研究。

参考文献:

[1] 沈秀, 王映兰, 王月英, 等. RM—2 小鼠自发淋巴瘤、S₁₈₀、U₁₄的宿主排斥性的比较研究[J], 实验动物科学与管理, 2005 22(3): 1—3
[2] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药 (西药) 临床前研究指导原则汇编[J]. 1993, 103—105
[3] 王映兰. 无毛小鼠繁育及其特性的初步观察[J]. 实验动物科学与管理, 2003 20 133—134

(收稿日期: 2007—01—28)

【会议通知】

中华预防医学会放射卫生专业委员会第四届全国学术会议暨放射卫生专业委员会换届大会征文通知 (第一轮)

中华预防医学会放射卫生专业委员会常委会讨论决定拟于 2007年 10月中下旬, 在广东省肇庆市召开“中华预防医学会放射卫生专业委员会第四届全国学术会议暨中华医学会放射卫生专业委员会换届大会”。本次会议宗旨是给广大放射工作者提供学术交流的舞台。达到充分交流、开拓思路、加强合作、促进学科发展与人才建设。同时召开放射卫生专业委员会换届大会。大会将邀请国内著名专家作学科进展新动向报告, 同时邀请国内大学、科研院所、医院、疾控中心、卫生监督部门等相关单位的医疗、卫生、科研工作者和管理人员广泛参与。

有关会议内容包括:

- 一、学术交流内容:
- (1)放射医学基础与临床、放射生物学基础、辐射流行病学
 - (2)辐射剂量学及其监测与防护、安全与评价
 - (3)天然本底辐射、环境辐射的污染监测与治理
 - (4)放射 (核) 事故和医学应急剂量估算与医学救治、抗放药及防护用药品
 - (5)放射防护、核安全法规标准及安全文化