

# 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<sup>137</sup>Cs 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<sup>137</sup>Cs 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 <sup>137</sup>Cs 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<sup>[1-2]</sup>，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<sup>[3]</sup>，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<sup>[4]</sup>，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: $^{137}\text{Cs}$ 源 $\gamma$ 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:氯化钙由天津市风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  $\text{CaCl}_2$  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  $\text{HClO}_4$  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<sup>[5]</sup>,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:  $1.5 \times 10^7$  个/ml, L1210:  $1.8 \times 10^7$  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  $^{137}\text{Cs}$  源  $\gamma$  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 SSPS6.0 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( $\times 10^9/L$ )	红细胞计数( $\times 10^{12}/L$ )	血红蛋白计数(g/L)	血小板计数( $\times 10^9/L$ )
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  $\gamma$ 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  $\gamma$ 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<sup>[6-7]</sup>。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<sup>[8]</sup>。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<sup>[9]</sup>,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  $\gamma$ 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