

何钢华,廖金娥,陈结文,等. 幼年期实验用食蟹猴血液学指标测定与比较[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 66-73.
He GH, Liao JE, Chen JW, et al. Determination and comparison of hematological parameters in juvenile laboratory cynomolgus monkeys [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 66-73.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.012

幼年期实验用食蟹猴血液学指标测定与比较

何钢华¹,廖金娥¹,陈结文¹,黄庆宇¹,罗 群¹,吴志恒¹,陈梅丽²,卢 丽^{1*}

(1.广州春盛生物研究院有限公司,广州 510900; 2.广东省实验动物监测所(广东省实验动物重点实验室),广州 510663)

【摘要】 目的 通过测定 853 只正常幼年期食蟹猴的血液学指标,统计并建立广东省内幼年期实验用食蟹猴各年龄段的血液学指标正常值参考范围。**方法** 随机选取 1~2 周岁 ($1 \leq x < 2$) 食蟹猴 273 只(雌性 124 只,雄性 149 只),2~3 周岁 ($2 \leq x < 3$) 食蟹猴 307 只(雌性 244 只,雄性 63 只),3~4 周岁 ($3 \leq x < 4$) 食蟹猴 273 只(雌性 124 只,雄性 149 只),检测其血液学指标,再按性别分亚组进行比较。**结果** 建立了幼年期实验用食蟹猴各年龄段的血液学指标正常值参考范围;雌雄动物之间比较,1~2 周岁动物血常规指标中,PLT 等 7 项指标存在差异显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);2~3 周岁动物血常规指标中,RDW-SD 等 5 项指标差异有显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);3~4 周岁动物血常规指标中,WBC 等 11 项指标有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);其余无统计学意义。**结论** 幼年期食蟹猴处于生长发育阶段,其血液学指标在不同年龄段存在较大差异,且不同性别间差异明显。本研究提供了正常食蟹猴幼年期不同年龄段的血液学背景数据,为其在生物医学领域的应用提供了可靠的参考。

【关键词】 食蟹猴;血液学指标;幼年期
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 10-0066-08

Determination and comparison of hematological parameters in juvenile laboratory cynomolgus monkeys

HE Ganghua¹, LIAO Jin'e¹, CHEN Jiewen¹, HUANG Qingyu¹, LUO Qun¹, WU Zhiheng¹, CHEN Meili², LU Li^{1*}
(1. Guangzhou Blooming-Spring Biological Research Institute Co., LTD, Guangzhou 510900, China.
2. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663)

【Abstract】 Objective This study was performed to determine the hematological parameters of 853 normal juvenile cynomolgus monkeys and establish a hematological reference range for laboratory cynomolgus monkeys from 1 to 4 years of age in Guangdong Province. **Methods** In total, 273 cynomolgus monkeys aged 1-2 years ($1 \leq x < 2$) (124 females, 149 males), 307 cynomolgus monkeys aged 2-3 years ($2 \leq x < 3$) (244 females, 63 males), and 273 cynomolgus monkeys aged 3-4 years ($3 \leq x < 4$) (124 females, 149 males) were randomly selected. Hematological indicators were measured, and subgroups were compared by sex. **Results** The reference range of normal hematological parameters in various age groups of experimental cynomolgus monkeys was established. In the comparison between male and female animals, the platelet count and 7 other indicators were significantly different in the 1- to 2-year old animals ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the red cell distribution width-standard deviation and 5 other indicators were significantly different in the 2- to 3-year-old animals ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the white blood cell count and 11 other indicators were significantly different in the 3- to 4-year-old animals ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions** Juvenile cynomolgus monkeys are still in the developmental stages and their

[基金项目] 广东省省级科技计划项目(2017B020231001,2017A070701003)。
[作者简介] 何钢华(1995—),男,学士,助理工程师,研究方向:实验动物学。E-mail: ganghuah@gdchunsheng.com
[通信作者] 卢丽(1980—),女,副教授,研究生导师。E-mail: luli@gdchunsheng.com

hematological parameters vary greatly at different ages, and obvious differences are present between males and females at the same age. This study provides hematological background data of normal juvenile cynomolgus monkeys, which can serve as a reliable reference for their application in the biomedical field.

[Keywords] cynomolgus monkey; hematological parameters; juvenile

非人灵长类实验动物与人类的遗传物质有 75%~98.5% 的同源性^[1],在系统发育上与人类接近,在生理学、解剖学、免疫学以及神经学方面有许多相似之处^[2],是研究人类健康和疾病的理想实验动物,其生物学特性对药理学、毒理学及药物安全性评价等方面的研究具有重要的意义^[3]。广东省非人灵长类实验动物存量达 80 000 只,占全国总存量 1/3,以食蟹猴为主,每年出口欧美的标准化实验猴数量超过 6000 只^[4],丰富的实验猴资源,是研究人类相关疾病及毒理学研究的良好模型动物^[5]。但其在疾病模型的开发应用方面仍然非常有限,自发性疾病模型的开发尚为欠缺,资源的附加值还有很大的提升空间。因此,建立广东省内幼年期具体年龄段实验用食蟹猴的血液学指标参考值不仅对其应用提供重要的参考意义,且对食蟹猴日常疾病的诊断及动物模型的开发意义深远。本实验对幼年期具体年龄段正常食蟹猴的血液学指标测定,并进行性别间比较,为其在生物医学领域的应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

1~2 周岁 ($1 \leq x < 2$) 食蟹猴 273 只,雌性 124 只,雄性 149 只;2~3 周岁 ($2 \leq x < 3$) 食蟹猴 307 只,雌性 244 只,雄性 63 只;3~4 周岁 ($3 \leq x < 4$) 食蟹猴 273 只,雌性 124 只,雄性 149 只。所选食蟹猴均为正常未用于实验的动物。级别:普通级;动物提供单位:广东春盛生物科技发展有限公司[SCXK(粤)2014~0027]。饲养条件:于广东春盛生物科技发展有限公司内群居饲养[SYXK(粤)2015~0152],环境温度:18℃~26℃,相对湿度 40%~70%,照明:采用 12 h/12 h 昼夜明暗交替。已经通过广东省实验动物监测所 IACUC 的审查,编号为: IACUC 2018002。在满足实验动物 3R 原则的基础上为实验动物提供充足的动物福利。

1.2 主要试剂与仪器

血红细胞分析用稀释液 (CELLPACK DFL)、Hb 溶血剂 (SULFOLYSER)、WNR 溶血剂 (Lysercell WNR)、WDF 溶血剂 (Lysercell WDF)、WDF 染色液

(Fluorocell WDF)、WNR 染色液 (Fluorocell WNR)、PLT 荧光染色液 (Fluorocell PLT) (批号分别为: A7010、A7014、A8006、A7019、A7062、A7047、A7094,日本 SYSMEX (希森美康) 株式会社)。血液分析仪 XN-1000 V[B1]型(日本 Sysmex 株式会社)。

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集

动物禁食 12 h 后,非麻醉状态下使用 2 mL 含乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K2) 真空采血管对实验动物采用前肢头静脉采血 2 mL,保存样本并于 1.5 h 送检。

1.3.2 血液学指标测定

使用 Sysmex XN~1000 V 全自动血液分析仪对动物抗凝血进行以下指标测定:白细胞计数 (WBC)、红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞比积 (HCT)、平均红细胞体积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、血小板计数 (PLT)、红细胞分布宽度-标准差 (RDW-SD)、红细胞分布宽度-变异系数 (RDW-CV)、血小板分布宽度 (PDW)、平均血小板体积 (MPV)、大血小板比率 (P-LCR)、血小板比积 (PCT)、中性粒细胞 (NEUT#)、淋巴细胞 (LYMPH#)、单核细胞 (MONO#)、嗜酸性粒细胞 (EO#)、嗜碱性粒细胞 (BASO#)、中性粒细胞百分比 (NEUT%)、淋巴细胞百分比 (LYMPH%)、单核细胞百分比 (MONO%)、嗜酸性粒细胞百分比 (EO%)、嗜碱性粒细胞百分比 (BASO%)。

1.3.3 参考值范围建立

对获得的数据进行分布性验证,对于符合正态分布的数据,其参考值范围采用 ($\bar{x} \pm 1.96s$) 方法表示;对于不符合正态分布的数据则采用百分位数法得出其参考值范围,以 $M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$ 表示^[6-8]。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计软件对实验数据进行统计描述和分析,比较各测定指标雌雄性别间的差异,显著性差异水平 $\alpha = 0.05$ 。先对数据进行正态性检验,若服从正态分布,则进行方差齐性检验,后采用独立样本 t 检验统计方法;若数据为非正态分布或方差不齐 ($P < 0.05$),则采用非参数检验统计方

法^[9]。数据结果以平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,置信区间为 95%。

2 结果

2.1 参考值范围的建立

对统计数据结果采用正态分布法($\bar{x}\pm 1.96s$)或百分位数法建立幼年期不同年龄段正常实验用食蟹猴的参考值范围,见表 1。

2.2 1~2 周岁(1≤x<2)食蟹猴血液学指标

雄性动物与雌性动物相比较,在红细胞方面,雌雄动物没有显著性差异($P>0.05$)。免疫细胞中 LYMPH、BASO、NEUT 指标差异极显著($P<0.01$),其中雄性动物 BASO 和 LYMPH 显著低于雌性动物,而 NEUT 则雄性动物显著高于雌性动物($P<0.05$)。血小板方面,PLT 及 P-LCR 在雌雄动物间

差异极显著($P<0.01$),PDW 及 MPV 则在雌雄动物间差异显著($P<0.05$),除雄性动物 PLT 极显著高于雌性动物外($P<0.01$),P-LCR、PDW、MPV 均显著低于雌性动物($P<0.05$)。其余指标均没有显著性差异,详见表 2。

2.3 2~3 周岁(2≤x<3)食蟹猴血液学指标

2~3 周岁雌雄食蟹猴血液学指标相比较,红细胞指标除 RDW-SD 雄性动物显著低于雌性动物外($P<0.05$),其余指标均没有显著性差异($P>0.05$)。免疫细胞除 BASO 指标雄性动物极显著低于雌性动物外($P<0.01$),其余指标均无显著性差异。而血小板方面,雄性动物 PDW、MPV 及 P-LCR 极显著低于雌性动物($P<0.01$),其余各指标均无显著性差异,详见表 3。

表 1 幼年期食蟹猴血液学指标参考范围
Table 1 Reference range of hematological indicators in the juvenile cynomolgus monkeys

检测项目 Test items	1~2 周岁 1-2 years old	2~3 周岁 2-3 years old	3~4 周岁 3-4 years old
白细胞计数 (10 ⁹ /L) WBC count	14.06~25.05	14.82~24.80	12.51~21.33
红细胞计数 (10 ¹² /L) RBC count	5.21~5.98	5.01~5.88	5.14~5.93
血红蛋白 (g/L) HGB	125.24~141.20	122.88~141.20	124.45~141.75
红细胞压积 (%) HCT	40.98~45.49	40.05~45.46	40.28~45.64
平均红细胞体积 (fL) MCV	74.48~80.34	75.54~81.80	74.70~80.72
平均红细胞血红蛋白量 (pg) MCH	22.57~25.14	22.95~25.67	22.84~25.34
平均红细胞血红蛋白浓度 (g/L) MCHC	300.00~316.20	300.45~317.17	301.00~318.87
血小板计数 (10 ⁹ /L) PLT count	385.65~616.35	361.00~605.02	375.03~609.25
红细胞分布宽度-标准差 (fL) RDW-SD	31.77~37.47	33.18~37.76	32.14~38.31
红细胞分布宽度-变异系数 (%) RDW-CV	11.50~13.41	11.72~13.29	11.58~13.65
血小板分布宽度 (fL) PDW	12.51~17.86	12.58~17.91	11.85~17.30
平均血小板体积 (fL) MPV	11.06~13.74	11.09~13.77	10.62~13.33
大血小板比率 (%) P-LCR percentage	33.96~55.78	34.35~56.30	30.26~52.42
血小板比积 (%) PCT	0.50~0.74	0.48~0.70	0.47~0.69
中性粒细胞计数 (10 ⁹ /L) NEUT count	3.06~10.49	4.08~11.25	3.59~10.05
淋巴细胞计数 (10 ⁹ /L) LYMPH count	7.11~15.30	7.10~14.32	5.32~12.43
单核细胞计数 (10 ⁹ /L) MONO count	0.88~1.97	0.80~1.83	0.63~1.53
嗜酸性粒细胞计数 (10 ⁹ /L) EO count	0.00~0.25	0.00~0.22	0.00~0.24
嗜碱性粒细胞计数 (10 ⁹ /L) BASO count	0.013~0.07	0.019~0.06	0.012~0.04
中性粒细胞百分比 (%) NEUT percentage	21.46~47.75	24.68~52.03	25.79~55.15
淋巴细胞百分比 (%) LYMPH percentage	44.61~69.98	41.23~67.35	38.40~66.17
单核细胞百分比 (%) MONO percentage	5.11~9.55	4.60~8.65	4.25~8.59
嗜酸性粒细胞百分比 (%) EO percentage	0.00~1.31	0.00~1.10	0.00~1.43
嗜碱性粒细胞百分比 (%) BASO percentage	0.09~0.30	0.11~0.26	0.09~0.19

注:1~2 周岁(1≤x<2)、2~3 周岁(2≤x<3)、3~4 周岁(3≤x<4)食蟹猴数量分别为 273、307、273 只。
Note. The number of cynomolgus monkeys aged 1-2 (1≤x<2), 2-3 (2≤x<3) and 3-4 (3≤x<4) years were 273, 307 and 273, respectively.

表 2 1~2 周岁 ($1\leq x<2$) 食蟹猴血液学指标

Table 2 Hematological indices of the 1-2 year old ($1\leq x<2$) cynomolgus monkeys

检测项目 Test items	雄性 Male	雌性 Female
白细胞计数 ($10^9/L$) WBC count	19.22±5.94	19.95±4.90
红细胞计数 ($10^{12}/L$) RBC count	5.59±0.40	5.60±0.37
血红蛋白 (g/L) HGB	132.61±8.32	133.94±7.52
红细胞比积 (%) HCT	43.03±2.35	43.48±2.11
平均红细胞体积 (fL) MCV	77.12±3.06	77.76±2.73
平均红细胞血红蛋白量 (pg) MCH	23.77±1.32	23.96±1.23
平均红细胞血红蛋白浓度 (g/L) MCHC	308.17±8.00	308.02±8.26
血小板计数 ($10^9/L$) PLT count	518.65±118.18	479.80±108.57 **
红细胞分布宽度-标准差 (fL) RDW-SD	34.55±3.25	34.71±2.29
红细胞分布宽度-变异系数 (%) RDW-CV	12.50±1.08	12.41±0.77
血小板分布宽度 (fL) PDW	14.89±2.61	15.55±2.71 *
平均血小板体积 (fL) MPV	12.23±1.33	12.61±1.33 *
大血小板比率 (%) P-LCR	43.32±10.92	46.73±10.65 **
血小板比积 (%) PCT	0.63±0.12	0.61±0.11
中性粒细胞计数 ($10^9/L$) NEUT count	7.18±4.22	6.29±2.95 *
淋巴细胞计数 ($10^9/L$) LYMPH count	10.54±4.21	12.00±3.81 **
单核细胞计数 ($10^9/L$) MONO count	1.37±0.57	1.48±0.51
嗜酸性粒细胞计数 ($10^9/L$) EO count	0.10±0.13	0.13±0.15
嗜碱性粒细胞计数 ($10^9/L$) BASO count	0.036±0.02	0.044±0.03 **
中性粒细胞百分比 (%) NEUT percentage	37.26±14.32	31.41±10.80 **
淋巴细胞百分比 (%) LYMPH percentage	54.93±13.79	60.14±10.60 **
单核细胞百分比 (%) MONO percentage	7.11±2.08	7.59±2.36
嗜酸性粒细胞百分比 (%) EO percentage	0.53±0.73	0.65±0.72
嗜碱性粒细胞百分比 (%) BASO percentage	0.18±0.09	0.21±0.12 **

注:雄性动物 149 只,雌性动物 124 只;与雄性动物相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Number of male monkeys is 149 and female monkeys is 124. Compared with the males, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

表 3 2~3 周岁 ($2\leq x<3$) 食蟹猴血液学指标

Table 3 Hematological indices of the 2-3 year old ($2\leq x<3$) cynomolgus monkeys

检测项目 Test items	雄性 Male	雌性 Female
白细胞计数 ($10^9/L$) WBC count	19.23±5.81	19.96±4.76
红细胞计数 ($10^{12}/L$) RBC count	5.45±0.50	5.44±0.41
血红蛋白 (g/L) HGB	131.51±10.04	132.17±8.93
红细胞比积 (%) HCT	42.53±2.84	42.81±2.68
平均红细胞体积 (fL) MCV	78.27±3.35	78.77±3.07
平均红细胞血红蛋白量 (pg) MCH	24.21±1.43	24.33±1.34
平均红细胞血红蛋白浓度 (g/L) MCHC	309.13±9.68	308.73±8.01
血小板计数 ($10^9/L$) PLT	509.13±113.99	476.29±123.33
红细胞分布宽度-标准差 (fL) RDW-SD	34.86±2.44	35.63±2.23 *
红细胞分布宽度-变异系数 (%) RDW-CV	12.38±0.67	12.54±0.79
血小板分布宽度 (fL) PDW	14.45±2.59	15.46±2.65 **
平均血小板体积 (fL) MPV	11.87±1.25	12.57±1.33 **
大血小板比率 (%) P-LCR	40.47±10.60	46.58±10.74 **
血小板比积 (%) PCT	0.60±0.11	0.59±0.12
中性粒细胞计数 ($10^9/L$) NEUT count	7.55±3.91	7.69±3.50
淋巴细胞计数 ($10^9/L$) LYMPH count	10.26±4.94	10.83±3.19
单核细胞计数 ($10^9/L$) MONO count	1.22±0.57	1.33±0.50
嗜酸性粒细胞计数 ($10^9/L$) EO count	0.11±0.12	0.11±0.11
嗜碱性粒细胞计数 ($10^9/L$) BASO count	0.032±0.02	0.040±0.02 **
中性粒细胞百分比 (%) NEUT percentage	40.03±16.92	37.93±12.72
淋巴细胞百分比 (%) LYMPH percentage	52.87±15.87	54.65±12.25
单核细胞百分比 (%) MONO percentage	6.36±2.05	6.69±2.02
嗜酸性粒细胞百分比 (%) EO percentage	0.58±0.57	0.54±0.55
嗜碱性粒细胞百分比 (%) BASO percentage	0.15±0.06	0.20±0.08 **

注:雄性动物 63 只,雌性动物 244 只;与雄性动物相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Number of male monkey is 63 and female monkey is 244. Compared with male, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

表 4 3~4 周岁 ($3\leq x<4$) 食蟹猴血液学指标
Table 4 Hematological indices of the 3-4 year old ($3\leq x<4$) cynomolgus monkeys

检测项目 Test items	雄性 Male	雌性 Female
白细胞计数 ($10^9/L$) WBC count	17.94±5.12	16.56±4.08 *
红细胞计数 ($10^{12}/L$) RBC count	5.63±0.35	5.50±0.41 *
血红蛋白 (g/L) HGB	134.21±7.79	132.70±8.92
红细胞比积 (%) HCT	43.23±2.15	42.86±2.85
平均红细胞体积 (fL) MCV	76.93±2.81	77.99±3.04 *
平均红细胞血红蛋白量 (pg) MCH	23.89±1.21	24.16±1.26
平均红细胞血红蛋白浓度 (g/L) MCHC	310.42±7.21	309.76±9.49
血小板计数 ($10^9/L$) PLT	519.05±102.68	482.56±120.69 *
红细胞分布宽度-标准差 (fL) RDW-SD	34.52±2.33	35.48±3.28 *
红细胞分布宽度-变异系数 (%) RDW-CV	12.48±0.81	12.66±1.10
血小板宽度 (fL) PDW	13.88±2.25	14.84±2.84 *
平均血小板体积 (fL) MPV	11.51±1.00	12.14±1.42 **
大血小板比率 (%) P-LCR	37.50±8.54	42.71±11.57 **
血小板比积 (%) PCT	0.59±0.10	0.58±0.11
中性粒细胞计数 ($10^9/L$) NEUT count	5.88±2.72	7.16±3.34 **
淋巴细胞计数 ($10^9/L$) LYMPH count	10.78±4.49	8.19±2.88 **
单核细胞计数 ($10^9/L$) MONO count	1.09±0.41	1.08±0.46
嗜酸性粒细胞计数 ($10^9/L$) EO count	0.16±0.15	0.10±0.11 **
嗜碱性粒细胞计数 ($10^9/L$) BASO count	0.025±0.01	0.024±0.01
中性粒细胞百分比 (%) NEUT percentage	33.75±14.20	42.86±14.13 **
淋巴细胞百分比 (%) LYMPH percentage	59.08±13.39	49.87±13.28 **
单核细胞百分比 (%) MONO percentage	6.14±1.82	6.52±2.28
嗜酸性粒细胞百分比 (%) EO percentage	0.90±0.96	0.61±0.64 *
嗜碱性粒细胞百分比 (%) BASO percentage	0.13±0.05	0.14±0.05

注:雄性动物 149 只,雌性动物 124 只;与雄性动物相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Number of the male monkeys is 149 and female monkeys is 124. Compared with the males, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

2.4 3~4 周岁 ($3\leq x<4$) 食蟹猴血液学指标

雌雄动物相比较,红细胞方面,雄性食蟹猴 RBC 显著高于雌性,而 MCV、RDW-SD 则显著低于雌性食蟹猴 ($P<0.05$),其余各指标均无显著性差异 ($P>0.05$);在免疫细胞方面,WBC 差异显著 ($P<0.05$),而 LYMPH、NEUT 和 EO 差异极显著 ($P<0.01$),除 NEUT 雄性动物极显著低于雌性动物外,雄性动物 WBC、LYMPH、EO 显著高于雌性动物 ($P<0.05$),其余各指标无统计学意义。血小板方面,雄性动物 PLT 显著高于雌性动物,而 PDW 显著低于雄性动物 ($P<0.05$),雄性动物 MPV、P-LCR 则极显著低于雌性动物 ($P<0.01$),其余各指标无显著性差异,详见表 4。

2.5 各年龄段血液学变化趋势

免疫细胞计数方面,动物随年龄的增长,其 WBC、BASO 呈下降趋势;雌雄动物 LYMPH 指标在 1~3 周岁缓慢下降,而雄性动物则在 3~4 周岁呈上升趋势;雌雄动物 NEUT 在 1~4 周岁呈上升趋势,而雄性动物在 1~3 周岁上升,在 3~4 周岁下降,如图 1 所示。

血小板指数方面,MPV、PDW、P-LCR 指标雌性

动物高于雄性动物且在随年龄的增长而下降;相反,雄性动物 PLT 远高于雌性动物,且两者均在 1~2 周岁缓慢减少而在 3~4 周岁时增加,如图 2 所示。

红细胞方面,雌性动物和雄性动物 RBC、HCT、HGB 指标在其两岁以下均呈下降趋势,而在 3~4 岁时增加且雄性高于雌性;雌性动物 MCV、MCH 在 1~4 周岁年龄段高于雄性动物,且均在 1~2 周岁呈上升趋势,在 3~4 周岁呈下降趋势,见图 3。

3 讨论

药物的药效学研究、非临床安全性评价研究及临床前安全性评价研究是新药研发的核心内容。非人灵长类实验动物是药物新陈代谢研究的良好载体,在已研究的化合物中,71%证实药物在猴体内代谢和人体内代谢近似性好^[10],关于食蟹猴的血液学指标数据目前已有报道^[11-14],且本研究相关指标与文献报道存在差异。除了年龄和性别为主要影响因素外,动物个体年龄跨度较大,血液生理指标多受地域来源、环境、采集及储存方式、检测仪器等多方面因素的影响而存在差异^[15]。

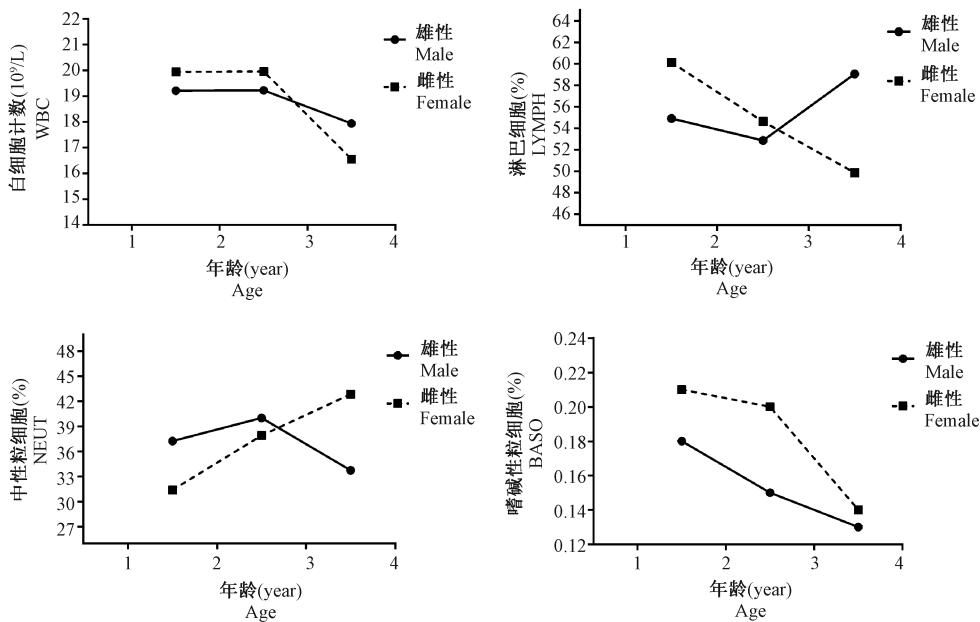


图 1 免疫细胞计数各年龄段变化趋势

Figure 1 Trends of immune cell counts in different age groups

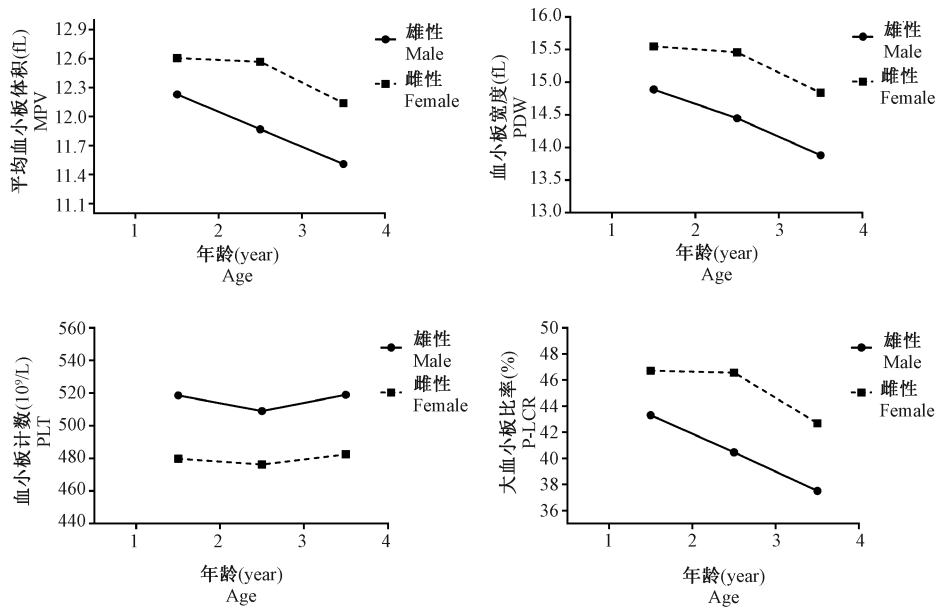


图 2 血小板计数及血小板指数各年龄段变化趋势

Figure 2 Trends of platelet counts and platelet indexes in different age groups

广东春盛生物科技发展有限公司食蟹猴存栏多达 20 000 余头,10 多年来因广东从化优越的气候环境和地理条件而稳定繁育。根据兽医的日常观察与经验,1 周岁的食蟹猴大致相当于人类的 4 周岁,本研究随机选用该公司幼年期不同年龄段正常实验用食蟹猴共 853 只进行血液学指标的测定与研究,大量的实验动物样本量为其血液学参考值范围的建立提供支撑,参考值范围见表 1。

本研究实验结果表明:年龄差异及性别差异可

能对食蟹猴血液学某些指标如 RBC、HGB、WBC、LYMPH、PLT 等存在影响。

红细胞方面,动物在 3 周岁前,雌性动物其红细胞数量如 HGB、HCT、MCV、MCH 等普遍高于雄性动物,而在 3~4 周岁的年龄段,雄性动物红细胞如 RBC、HGB 等明显升高并高于雌性动物,见图 3。可能为幼年猴机体为满足气体交换,促进新陈代谢而表现的正常状况,而后期雄性动物红细胞升高则可能与机体生长发育有关,雄性激素分泌水平升高促

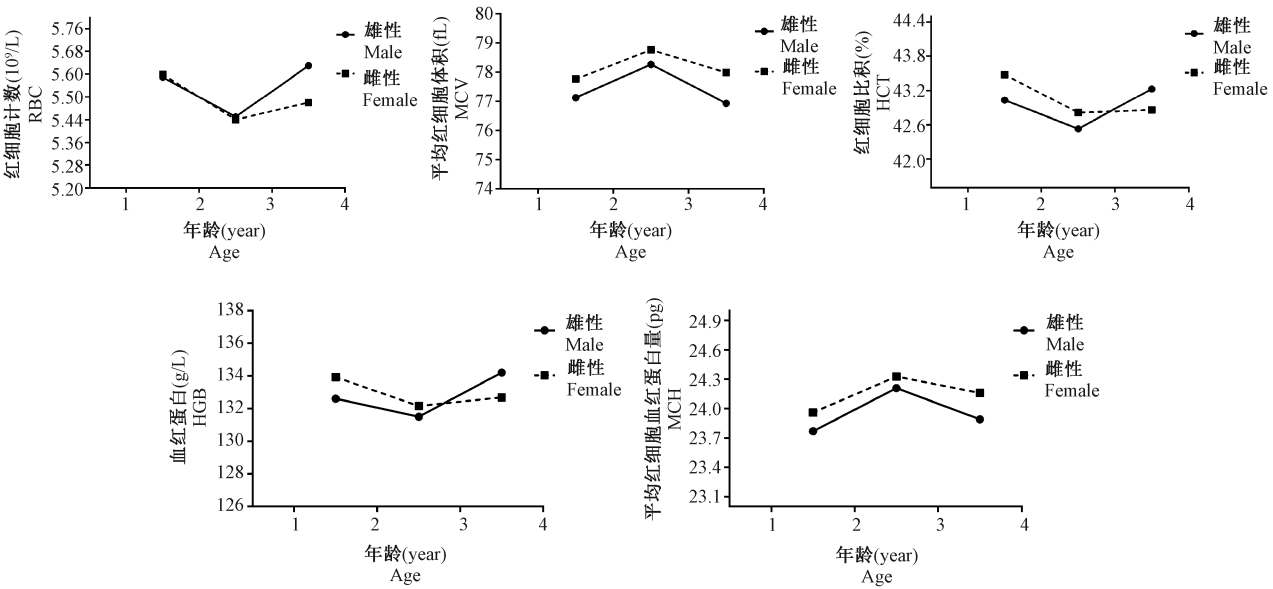


图 3 红细胞计数及红细胞指数各年龄段变化趋势

Figure 3 Trends of erythrocyte counts and erythrocyte indexes in different ages

进蛋白合成,从而利于红细胞生成;雄性食蟹猴 RBC 高于雌性,这也可能与雌性食蟹猴的月经生理周期相关,张晓钿等^[16]、Schuurman 等^[17]及 Kwon 等^[18]亦先后报道了此问题,且检测结果与本研究实验结果相似。与石巧娟等^[7]结果相比较,其幼年期组(18~36 月龄)红细胞以 MCV、MCH 偏低,其余指标基本一致。王崇圳等^[19]报道的结果中,其 MCV 及 MCH 指标雄性动物高于雌性动物与本研究结果相反;与李伟等^[20]结果比较,其 4~6 岁雌性群居食蟹猴 RBC、HGB 高于本研究结果,而其 MCV 及 MCH 偏低。可能为个体发育性成熟、环境气候、地理位置、动物数量及动物应激等因素所导致。与儿童的红细胞参数相比较^[21],其变化趋势基本一致。

免疫细胞方面,3 周岁前动物的免疫细胞数量较多,在 3~4 周岁时多呈下降趋势且雄性动物 WBC、LYMPH 高于雌性动物,见图 1。可能为年幼的食蟹猴因免疫系统、免疫器官尚未发育完善而高于其他年龄段;与相关已报道的文献相比较,大致年龄段 3~4 周岁的食蟹猴其 WBC、LYMPH 指标雄性高于雌性,与本研究结果相一致。与张晓钿等^[16]、刘士刚等^[14]、石巧娟等^[12]结果相比较,WBC 及 LYMPH 指标均为雄性动物高于雌性动物,而本研究实验结果相对偏高。可能与应激诱导条件有关,提示建立实验室生物数据时应考虑到不同区域、动物不同性别、不同年龄及年龄跨度的不同而存在的差异性。参考正常人类不同年龄外周循环

白细胞计数,4~12 周岁儿童免疫细胞随年龄的增长而下降,其变化伴随免疫系统发育成熟过程^[21],也可能为地域性差异所导致^[6],食蟹猴免疫细胞变化情况与人类相比较基本一致^[21]。

血小板方面,血小板指数(MPV、PDW、P-LCR)呈下降趋势且雌性动物高于雄性动物,而 PLT 数量则雄性显著高于雌性且在 3~4 周岁时呈上升趋势,见图 2。可能为幼年动物生长发育阶段,骨髓细胞增殖、分化为造血干细胞,血小板因巨核细胞的增多而呈调节性变化。与石巧娟等^[12]、李岩等^[13]研究结果相一致。与刘士刚等^[14]结果相比,其 3~5 岁龄食蟹猴 PLT 指标偏低,其余指标基本一致。与李伟等^[20]、田朝阳等^[22]结果比较,其雌性动物 PLT 指标均偏低,且随年龄增加而呈下降趋势,可能为动物数量、地域因素、年龄跨度大因素导致。这也提示动物随年龄的增长其血小板计数有下降的趋势^[23]。本研究结果也显示动物血小板指数随年龄增长有所下降,PLT 雄性动物高于雌性,可能由于雄性动物活泼好动而致使 PLT 高于雌性动物^[23],亦可能雌性动物处于生理周期所引起。

因幼年动物处于生长发育阶段,而 3~4 周岁的食蟹猴恰好亦处于向性成熟阶段过渡,因此血液学各指标在该年龄段变化较大。本研究提供了较常用于实验的幼年期食蟹猴具体年龄段的背景数据,初步建立广东省内幼年期食蟹猴血液学指标参考值范围,为应用食蟹猴进行药物的药效学研究及非

临床安全性评价研究等方面提供血液学指标的参考及支撑数据。

参考文献:

[1] 季维智,邹如金,商恩缘,等. 非人灵长类在生物医学研究中的应用及其保护 [J]. 动物学研究, 1996, 17(4): 509-520.

[2] Zhang XL, Pang W, Hu XT, et al. Experimental primates and non-human primate (NHP) models of human diseases in China: current status and progress [J]. Zool Res, 2014, 35(06): 447-464.

[3] 方喜业. 医学实验动物学 [M]. 北京:人民卫生出版社,1995.

[4] 林丹荣,何坚,李文德,等. 广东省实验动物资源现状调查及分析 [J]. 中国比较医学杂志,2018, 28(2): 119-123.

[5] 袁芳,潘晓靓,林海霞,等. 非人灵长类模型在生殖发育毒性评价中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(9): 989-993,1006.

[6] 蒋炳林,施小敏. 新生儿血液白细胞参考区间的建立与验证 [J]. 中国社区医师, 2019, 35(3): 133-134.

[7] 齐云,蔡润兰,刘彬,等. 新药长毒试验动物血液生化测定规范化研究系列之五——SPF 级 SD 大鼠血液生化参考值的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 26(4): 193-196.

[8] 李建新,徐安平,赖馨,等. 儿童年龄相关的常规凝血功能检测指标参考区间调查 [J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(12): 1193-1195.

[9] 金丕焕. 医用统计方法 [M]. 第 1 版. 上海:上海医科大学出版社,1993.

[10] 李厚达. 实验动物学 [M]. 第 2 版. 北京:中国农业出版社, 2003:194.

[11] 王冬平,隋丽华,洪宝庆,等. 食蟹猴与猕猴血液生理和生化指标的比较 [J]. 中国比较医学杂志,2007, 27(7): 400-402,434.

[12] 石巧娟,初明明,田朝阳,等. 人工饲养食蟹猴血液常规和生

化指标测定 [J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(4): 344-347.

[13] 李岩,何君,孙井江,等. 实验用食蟹猴生物学指标的研究 [J]. 现代预防医学, 2010, 37(13): 2503-2505.

[14] 刘仕刚,谢亮. 华东地区人工饲养食蟹猴血液常规和血清生化值的测定 [J]. 实验动物科学,2012,29(02):34-37.

[15] 季芳,饶军华,刘晓明. 人工饲养恒河猴血液生化正常参考值的测定与分析 [J]. 中国比较医学杂志,2006,26(6): 345-349.

[16] 张晓钿,符丽珍,李红海,等. 海南食蟹猴临床前生物学数据的检测及评价 [J]. 中国新药杂志,2018, 27(17): 2057-2062.

[17] Schuurman HJ, Smith HT. Reference values for clinical chemistry and clinical hematology parameters in cynomolgus monkeys [J]. Xenotransplantation, 2005, 12(1): 72-75.

[18] Kwon BK, Streijger F, Hilli CE, et al. Large animal and primate models of spinal cord injury for the testing of novel therapies [J]. Exp Neurol, 2015, 269: 154-168.

[19] 王崇圳. Beagle 犬、食蟹猴和 SD 大鼠血液学和生化学指标背景数据的建立 [A]. 中南地区实验动物科技交流会 [C]. 长沙: 2011.

[20] 李伟,金益,柏熊,等. 单笼与群居饲养对雌性食蟹猴生理指标的影响 [J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(5): 369-373.

[21] 刘人伟. 检验与临床:现代实验诊断学 [M]. 第 2 版. 北京:化学工业出版社,2009.

[22] 田朝阳,刘守桃,荆韬,等. 中老年食蟹猴血液生理和生化指标测定与比较 [J]. 中国比较医学杂志,2015, 25(3): 13-17.

[23] 刘静静,刘巧玲. 血小板计数参考值调查及生理性波动的观察 [J]. 中原医刊,2002, 29(9): 59-60.

[收稿日期] 2019-04-03