

管博文,卢延华,石桂英,等.老年和青年SD大鼠外周血及免疫细胞分型测定分析[J].中国比较医学杂志,2020,30(2):64-70.

Guan BW, Lu YH, Shi GY, et al. Differences in peripheral blood and immune cell phenotypes between aged and young Sprague-Dawley rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(2): 64-70.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.02.010

# 老年和青年SD大鼠外周血及免疫细胞分型测定分析

管博文,卢延华,石桂英,苏路路,王玉全,王卫,魏强,白琳\*,孟爱民\*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室,北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心,北京 100021)

**【摘要】 目的** 比较老年SD大鼠和青年SD大鼠外周血和免疫细胞分型指标差异。**方法** 12月龄和8周龄的SD大鼠进行外周血细胞计数、白细胞分类、免疫脏器系数、外周血免疫细胞分型、脾免疫细胞分型和脾T细胞P16表达量的检测。**结果** 与青年大鼠相比,老年大鼠外周血白细胞计数,淋巴细胞百分比下降;红细胞,血红蛋白,中性粒细胞百分比,嗜酸性粒细胞百分比和嗜碱性粒细胞百分比升高;血小板和单核细胞百分比未见差异。胸腺系数、脾系数,老年大鼠与青年大鼠未见差异。外周血免疫细胞分型中,老年大鼠辅助T细胞、调节性T细胞、自然杀伤细胞和单核细胞比例升高,B细胞比例降低;脾淋巴细胞分型检测结果显示,老年组大鼠B细胞(CD45RA)低于青年组大鼠( $P<0.01$ ),两组CD3未见差异。老年雄性大鼠脾T细胞P16 mRNA表达量与青年雄性大鼠相比有明显升高( $P<0.05$ )。**结论** 老年大鼠外周血细胞及免疫细胞分型改变。脾T细胞P16表达可能作为免疫衰老的生物学标志。文中对检测结果进行了比较分析,将为研究老年疾病及衰老动物模型提供基础数据。

**【关键词】** 老年SD大鼠;外周血细胞计数及分型;免疫脏器;P16

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)02-0064-07

## Differences in peripheral blood and immune cell phenotypes between aged and young Sprague-Dawley rats

GUAN Bowen, LU Yanhua, SHI Guiying, SU Lulu, WANG Yuquan, WANG Wei, WEI Qiang, BAI Lin\*, MENG Aimin\*  
(Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences; Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College; NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Beijing Engineering Research Center for Laboratory Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China.)

**【Abstract】 Objective** Differences in peripheral blood and immune cell phenotype were compared between aged and young Sprague-Dawley rats. **Methods** The peripheral blood cell count, leukocyte classification, immune organ coefficient, immune cell phenotype in peripheral blood and spleen, and p16 expression in spleen T cells were detected in 8-

**【基金项目】**中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助(2017-I2M-3-015);国家重点研发计划(2017YFA0105204);国家自然科学基金(81573094)。

**【作者简介】**管博文(1992—),男,技师,研究方向:比较医学。E-mail: guanbw@cnilas.org

**【通信作者】**孟爱民(1963—),女,研究员,博士生导师,研究方向:比较医学。E-mail: aiminmeng@cnilas.org

白琳(1984—),女,研究方向:干细胞与衰老。E-mail: bailin@cnilas.org \*共同通信作者

week-and 12-month-old rats. **Results** Compared with young rats, the peripheral blood leukocyte count and percentage of lymphocytes in aged rats were decreased, and the percentages of erythrocytes, hemoglobin, neutrophils, eosinophils, and basophils were increased. However, there was no difference in the percentages of platelets and monocytes between groups. Additionally, there were no differences in thymus coefficient and spleen coefficient between young and old rats. Peripheral blood immunophenotyping indicated helper T cells, regulatory T cells, natural killer cells, and monocytes were increased, whereas B cells were decreased in aged rats compared with young rats. However, there was no significant difference in cytotoxic T cells. In old rats, markedly lower numbers of B cells (CD45RA) were present in the spleen compared with young rats, and there was no significant difference in CD3 cells between the groups. In addition, the expression of P16mRNA in spleen T cells of aged male rats was significantly higher than in young male rats. **Conclusions** In aged rats, the differentiation of peripheral blood cells was deviated, the proportion of neutrophils was increased, and the proportion of lymphocytes was decreased compared with young rats. The proportion of regulatory T cells in the peripheral blood was increased, and the proportion of B lymphocytes was decreased in the peripheral blood and spleen in aged rats compared with young rats. These changes in innate immunity and acquired immunophenotype suggest that the immune function of aged rats was decreased and the regulation of immune function was disordered, similar to changes in the immune system of elderly population. The expression of P16 in spleen T cells was increased in aged rats, and therefore might be used as a biomarker for immune senescence. This study provides primary data for the study of age-related diseases and ageing animal models.

**[Keywords]** aged rats; count and phenotypes of peripheral blood cells; immune organ; P16

中国是世界上老年人口最多的国家,给当今社会 and 经济发展带来了巨大挑战。在老龄化过程中机体稳态平衡被打破,身体各系统机能不断减退,成为各种老年病的重要危险因素,严重影响老年人的生活质量。衰老有很多种理论,包括自由基损伤,端粒酶缩短,DNA 损伤和免疫衰老等。其中免疫衰老学说的核心观点是机体衰老是免疫衰老,神经衰老,内分泌紊乱共同导致的。机体的衰老导致免疫器官的萎缩,进一步导致淋巴细胞功能的下降,对应激的应答减弱,反过来导致机体的进一步衰老。神经细胞和免疫细胞有相同的细胞因子受体,存在着相互作用,神经系统的衰老也会导致内分泌系统的紊乱,最终导致整个机体的衰老加快<sup>[1-3]</sup>。

相比低等动物,啮齿类动物在身体结构功能上和基因上都与人更加接近,其中大鼠在神经,毒理和代谢上更接近人类,有利于未来制作基因修饰的早衰大鼠模型<sup>[4-5]</sup>。所以本文选用老年大鼠检测外周血、脾免疫细胞分型及免疫细胞衰老指标,并与对青年大鼠进行比较分析。进一步分析各项指标的性别差异,为研究老龄化改变及老年病提供基础数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级青年 SD 大鼠,8 周龄,共 10 只,雌雄各半,雄性体重 265~285 g,雌性体重 199~205 g;SPF

级 12 月龄 SD 雄性大鼠 10 只,体重 720~970 g,雌性大鼠 10 只,体重范围 360~490 g。SD 大鼠均购于北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0004]。青年与老年大鼠均饲养于中国医学科学院医学实验动物研究所动物房屏障环境[SYXK(京)2015-0035],温度为 20℃~26℃,内外压差大于 10 帕斯卡,相对湿度为 40%~70%,12 h 进行一次昼夜交替,照明强度为 15~20 勒克斯,动物自由取食饮水。本实验经过中国医学科学院医学实验动物研究所 IACUC 的批准,批准号为 MAM17001。并依照实验动物伦理和福利要求使用实验动物。

### 1.2 主要试剂与仪器

流式抗体 CD25-PE、CD3-FITC 购于 eBioscience;CD8 PE-Cy7、Mac-PE 购于 ThermoFisher scientific;CD4-APC、CD161-FITC、CD45RA-APC、CD3-FITC、CD45RA-APC 购于 BioLegend;红细胞裂解液购于 Invitrogen 公司;EasySep™ Rat T Cell Isolation Kit 购于 STEMCELL Technologies;大鼠脾单个核细胞分离液试剂盒由索莱宝提供;外周血计数及分类由全自动血液分析仪 PentraDX120(ABX)分析;血细胞免疫分型应用 BD 流式分析仪(BD FACSAria II)检测。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 外周血细胞计数及分类

大鼠称重腹腔注射 2%戊巴比妥钠,麻醉后腹主动脉取血,医用抗凝采血管收集,用于外周血计

数及白细胞分类。取血后安乐死<sup>[6]</sup>。

### 1.3.2 免疫脏器系数

大鼠安乐死后,取胸腺、脾和大脑分别称重,计算胸腺系数和脾系数。胸腺系数=胸腺重量(g)/大鼠大脑重(g),脾系数=脾重量(g)/大鼠大脑重(g)<sup>[7-8]</sup>。

### 1.3.3 外周血免疫细胞和脾淋巴细胞分型检测

将大鼠脾研磨制备脾细胞悬液。取一定量脾悬液和外周血分别加入红细胞裂解液室温裂解 8 min,加入 PBS 终止裂红,并离心洗涤一次,离心条件为 400 g,4℃,5 min。弃上清重悬加入对应抗体 4℃ 孵育。PBS 洗涤并重悬,离心条件同上。用流式细胞仪分别进行外周血和脾淋巴细胞的免疫分型检测<sup>[9]</sup>。

### 1.3.4 脾 T 细胞分离及 P16 mRNA 表达量检测

利用试剂盒采用密度梯度离心法分离大鼠脾单个核细胞、免疫磁珠法富集 T 细胞。具体步骤如下:取适量脾细胞悬液体积调节为 3 mL,缓慢加到 ficoll 分离液上,室温 1500 r/min 离心 25 min。离心后取单个核细胞层,用不含钙镁 Hank's 液洗涤 2 次。用含有 2% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和 1 mM EDTA 的 PBS 重悬并计数,将浓度调节为每毫升  $5 \times 10^7$  个。在样品中按 50  $\mu$ L/mL 加入 Cocktail 混合抗体,混匀,室温孵育 10 min。孵育结束后在样品中按 50  $\mu$ L/mL 加入磁珠 (RapidSpheres),并加入含 2% FBS 和 1mM EDTA 的 PBS 补齐至 5 mL。放入磁铁分离器中孵育,室温 10 min。孵育后其他细胞被磁珠包被吸附在管壁,

细胞悬液中为 T 细胞。收集细胞悬液,离心重悬计数,按每  $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  个细胞加入 1 mL TRIzol 保存,由上海欧易生物医学科技有限公司采用 RT-qPCR 检测 P16 mRNA 表达量<sup>[10]</sup>。

## 1.4 统计学方法

采用 GraphPad Prism 6 软件处理数据、作图,计量资料数据用平均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组间差异采用 *t*-test 检验和 ANOVA 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 外周血计数及分类

外周血计数结果显示,与青年大鼠相比,老年大鼠白细胞计数降低(降低 28.7%,  $P < 0.05$ ),红细胞计数、血红蛋白含量升高(分别为  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。分类结果显示淋巴细胞百分比下降(降低 18.8%);粒细胞百分比、嗜酸性粒细胞百分比和嗜碱性粒细胞百分比升高(分别升高 40.2%、104.4%和 28.9%,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ );血小板和单核细胞百分比未见差异。提示了老年大鼠淋系和粒系细胞分化偏移。结果如表 1 所示。

### 2.2 免疫脏器系数

由于老年大鼠与青年大鼠、两组大鼠不同性别之间体重有明显差异,常规的脏器系数(脏器/体重比)无法真实的反映脏器的变化,故免疫脏器系数以大鼠胸腺、脾重量与大脑重量比表示<sup>[8]</sup>。分析结果显示,老年组与青年组大鼠胸腺指数和脾指数未见显著性差异。结果见图 1。

表 1 老年大鼠与青年大鼠外周血计数比较  
Table 1 Comparison of peripheral blood cell counts between aged and young rat

组别\项目 Group\Item	青年组( $n=10$ ) Young group	老年组( $n=20$ ) Aged group
白细胞( $10^9/L$ ) WBC	8.17 $\pm$ 2.57	5.82 $\pm$ 2.7*
红细胞( $10^{12}/L$ ) RBC	6.03 $\pm$ 0.83	7.24 $\pm$ 0.53**
血红蛋白(g/L) HGB	127 $\pm$ 5.06	134.3 $\pm$ 7.94*
血小板( $10^9/L$ ) PLT	846.2 $\pm$ 175.7	809.5 $\pm$ 108.1
中性粒细胞百分比(%) NE	27.73 $\pm$ 4.78	38.89 $\pm$ 4.91**
淋巴细胞百分比(%) LY	69.41 $\pm$ 5.05	56.33 $\pm$ 5.35**
嗜酸性粒细胞百分比(%) EOS	1.48 $\pm$ 0.59	3.03 $\pm$ 0.96**
嗜碱性粒细胞百分比对比(%) BAS	1.09 $\pm$ 0.23	1.41 $\pm$ 0.37*
单核细胞百分比对比(%) MO	0.29 $\pm$ 0.11	0.36 $\pm$ 0.2

注:与青年大鼠相比,\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Note. Compared with young rat, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 2.3 外周血免疫分型

流式细胞术检测外周血辅助 T 细胞(CD4)、调节性 T 细胞(CD4 CD25)、细胞毒性 T 细胞(CD3 CD8)、B 细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和单核细胞,各种细胞分析门的设置见图 2。

流式结果显示,与青年大鼠比较,老年组大鼠的辅助 T 细胞、调节性 T 细胞、自然杀伤细胞和单核细胞升高,B 细胞降低,细胞毒性 T 细胞未见明显差异。相较于青年组,老年组辅助 T 细胞从(32.34 ± 1.93)%上升到(39.67 ± 1.75)%( $P < 0.05$ );老年组调节性 T 细胞从(2.30 ± 0.42)%上升到(6.58 ± 0.93)%( $P < 0.01$ );老年组自然杀伤细胞从(3.02 ± 0.36)%上升到(6.21 ± 0.66)%( $P < 0.01$ ),老年组单核细胞从(0.43 ± 0.11)%上升到(1.00 ± 0.15)%( $P < 0.05$ );相较于青年组,老年组 B 细胞从

(39.14 ± 2.30)%下降到(31.50 ± 1.88)%( $P < 0.05$ )。细胞毒性 T 细胞未见明显差异,见图 3。

### 2.4 脾免疫细胞分型

流式细胞术分析脾淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>和 CD45RA<sup>+</sup>比例。见图 4。

结果显示,与青年组相比,老年组 CD3 细胞比例未见明显差异,CD45RA 从(46.42 ± 3.65)%降低到(38.69 ± 5.52)% ,差异有极显著性( $P < 0.01$ )。结果见图 5。

### 2.5 脾 T 细胞 P16 mRNA 表达量检测

为了检测老年大鼠 T 淋巴细胞 P16 mRNA 表达量的改变,分离 T 细胞,RT-PCR 检测 P16 mRNA 表达量。结果显示,相比于青年雄性大鼠,老年雄性大鼠 P16 mRNA 表达量明显升高,从 1.03 ± 0.28 上升到 4.74 ± 2.05( $P < 0.05$ )。结果见图 6。

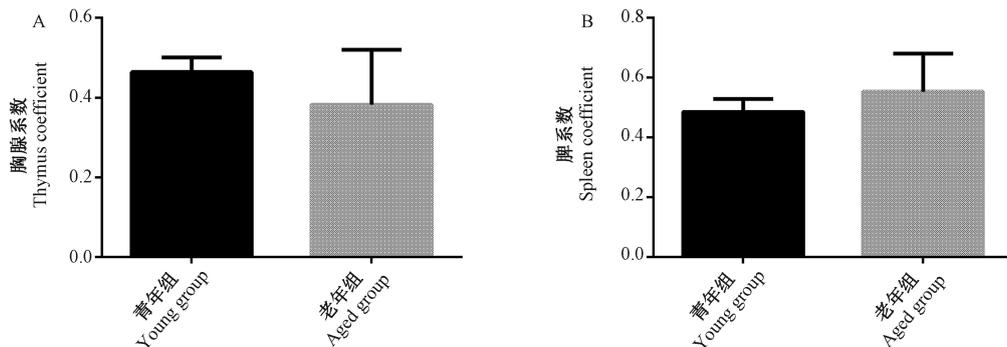


图 1 老年大鼠与青年大鼠免疫脏器系数比较

Figure 1 Comparison of organ coefficient between aged and young rat

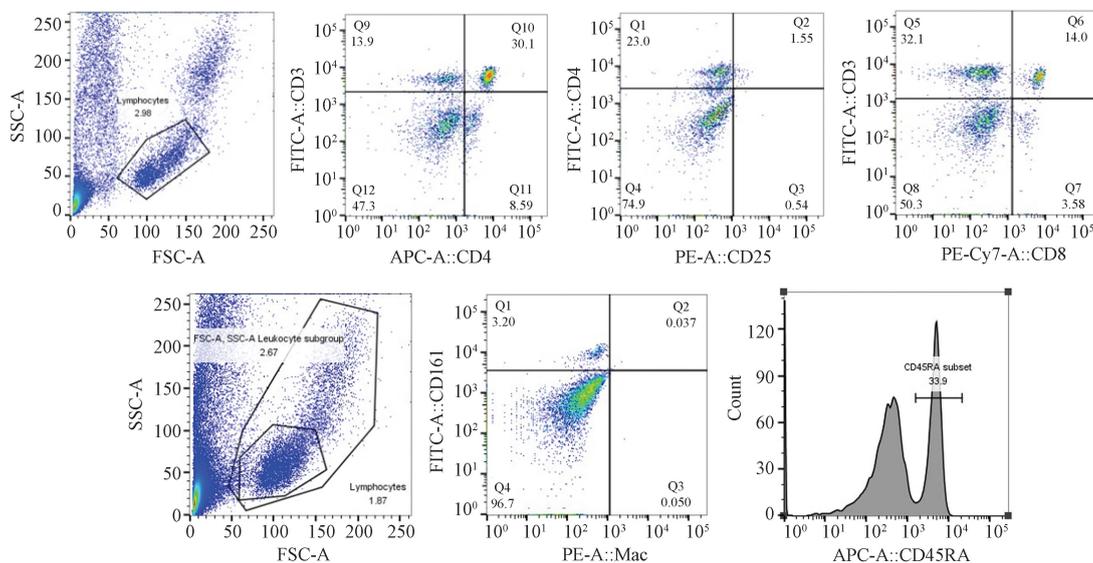
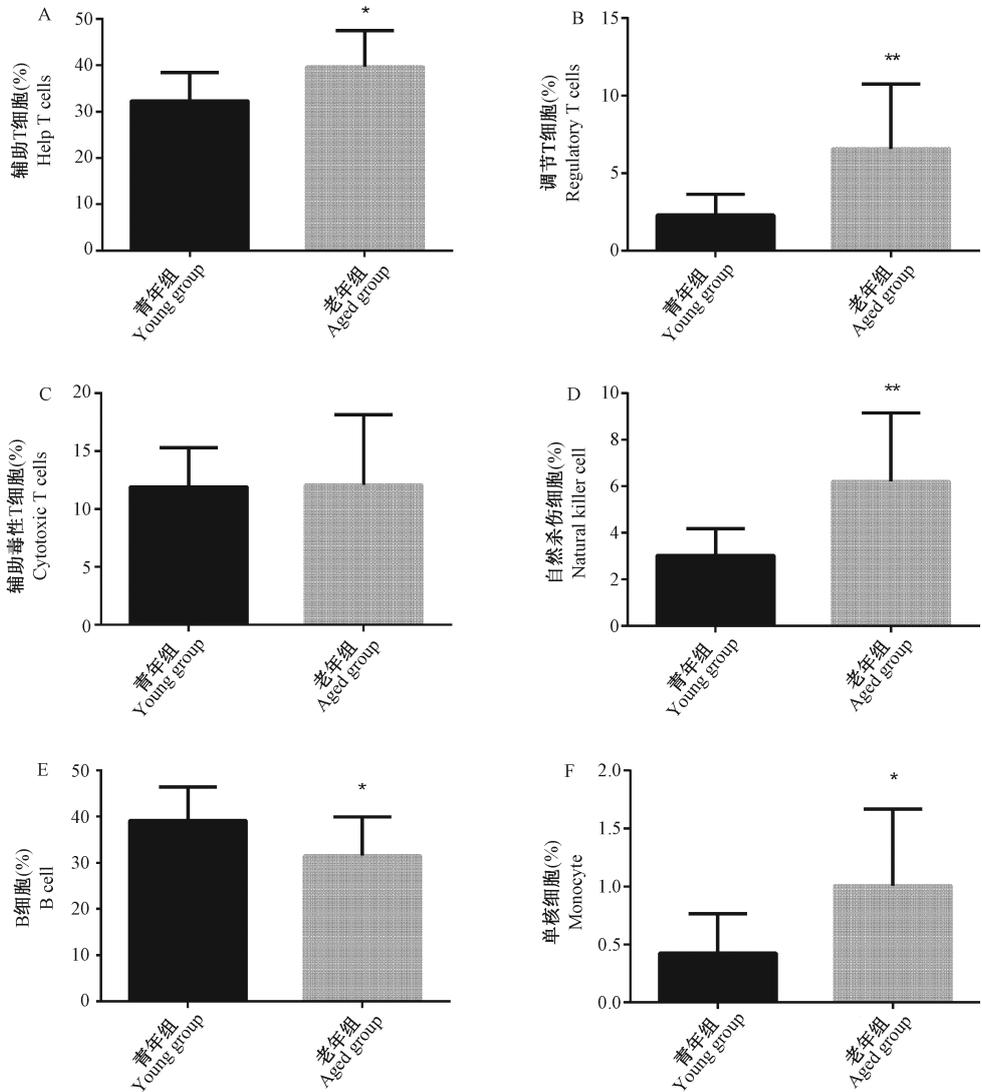


图 2 外周血细胞流式分析门的设置及示意图

Figure 2 Representative gating strategy for peripheral blood immune cell phenotypes analyzed by flow cytometry



注:与青年大鼠相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

图 3 老年大鼠与青年大鼠外周血免疫细胞分型比较

Note. Compared with young rat, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

Figure 3 Comparison of immune cell typing in peripheral blood between aged and young rat

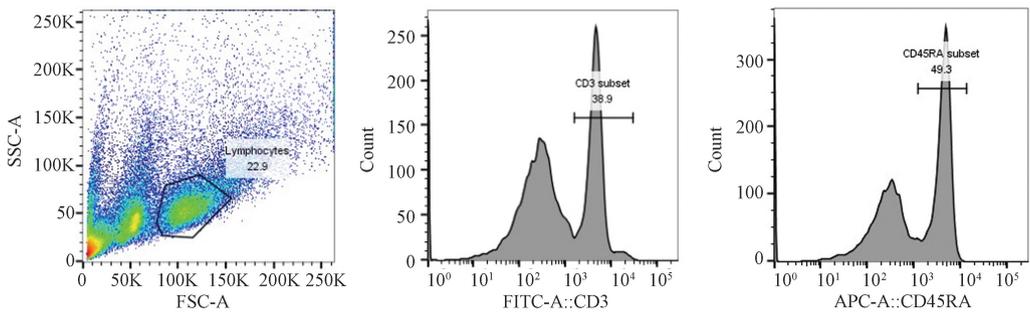
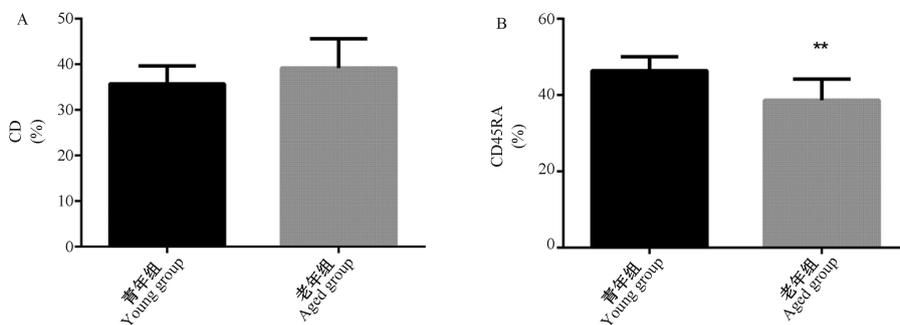


图 4 流式分析脾免疫细胞门的设置及示意图

Figure 4 Representative gating strategy for splenic immune cell phenotypes analyzed by flow cytometry

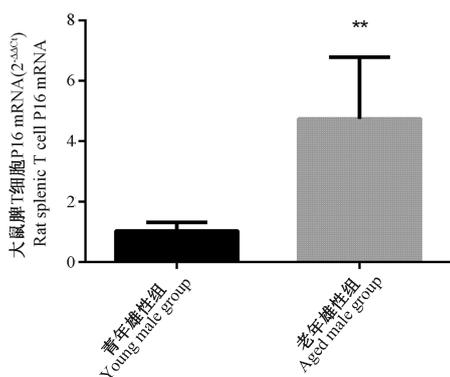


注:与青年大鼠相比, \*\*  $P < 0.01$ 。

图 5 老年大鼠与青年大鼠脾免疫细胞分型比较

Note. Compared with young rat, \*\*  $P < 0.01$ .

Figure 5 Comparison of splenic immune cell typing between aged and youngrat



注:与青年雄性大鼠相比, \*\*  $P < 0.01$ 。

图 6 老年雄性大鼠和青年雄性大鼠脾 T 细胞的 P16 mRNA 表达比较

Note. Compared with young male rat, \*\*  $P < 0.01$ .

Figure 6 Comparison of P16 mRNA expression in splenic T cells between aged male rat and young male rat

### 3 讨论

本研究对老年大鼠外周血计数、免疫细胞分型、脏器系数以及 T 细胞 P16 表达水平进行检测,并与青年大鼠进行比较分析。

老年大鼠外周血检测结果显示白细胞减少,红细胞升高;淋巴细胞比例减低,中性粒细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞比例升高,提示老年大鼠天然免疫功能下降,淋系与髓系比例发生改变出现,分化偏移,变态反应性增强,与老年人出现的改变类似。与研究人员前期检测老年小鼠的结果相同<sup>[9]</sup>。而在林洪燕和张海洁等<sup>[11-12]</sup>的研究中,老年人群外周血红细胞和血红蛋白都是趋于降低。胡雄飞等<sup>[13]</sup>的研究中,相较于青年大鼠,老年大鼠只有白细胞和血红蛋白是升高的,其余各项均无显著性差异。李长雷的研究中,则是红细胞,中性粒细胞百分比,

嗜碱性粒细胞百分比和单核细胞百分比上升,血小板,淋巴细胞百分比下降<sup>[14]</sup>。老年大鼠外周血的变化测定结果不一致,可能与测定实验室条件不同有关,但老年大鼠外周血白细胞计数下降、淋巴细胞比例降低、中性粒细胞比例升高的结果比较一致。这可能与老年人易出现髓系白血病有关<sup>[15]</sup>。

外周血免疫分型中,老年组大鼠 T 细胞比例升高, B 细胞比例明显下降, CD4/CD8 比例升高, 调节 T 细胞显著升高; B 细胞下降与脾淋巴细胞分型检测结果一致,提示老年大鼠在白细胞降低、淋巴细胞比例下降的基础上,中枢淋巴器官和外周血 B 细胞水平降低,可能与老年人接种疫苗免疫反应性下降,抗感染能力降低有关<sup>[16]</sup>。但这与课题组前期研究发现老年小鼠外周血仅有 CD4 比例降低不同<sup>[9]</sup>。

调节性 T 细胞通过主动调节的方式抑制存在于正常机体内潜在的自身反应性 T 细胞的活化与增殖,防止自身免疫性疾病的发生;测定结果发现,老年大鼠调节 T 细胞比例升高,则可能与老年人出现免疫抑制,免疫监视功能下降,肿瘤高发及转移有关<sup>[17]</sup>。今后还要进一步确认这是否为老年 SD 大鼠的特有的 T 细胞表型改变。

检测结果显示老年组大鼠的 NK 细胞和单核细胞比例有明显升高。这是在外周血白细胞比例下降的基础上的升高,还需进一步检测 NK 细胞和单核细胞功能,探讨这种改变的临床意义。在于昉等<sup>[18]</sup>的研究中,老年人 NK 细胞的比例没有明显变化,但是在 NK 细胞毒活性明显降低。邓宪等<sup>[19]</sup>的研究中,老年人单核细胞数上升,与青年人群中单核细胞上升意义不同,在老年人群中可能代表机体衰老和凋亡细胞增多,单核细胞反应性升高。

P16 由 p16INK4a 基因编码的细胞周期抑制剂,

也是一种肿瘤抑制蛋白<sup>[20]</sup>。研究人员发现老年雄性大鼠脾 T 细胞 P16 mRNA 表达明显高于青年雄性大鼠。老年小鼠中除了脾之外,在脑、心脏、肺和睾丸中也有明显升高<sup>[21]</sup>。老年人 T 细胞 p16INK4a 的表达量随年龄的增长呈指数增长<sup>[22]</sup>。在 Melk 等<sup>[23]</sup>的研究中显示,人肾脏皮层按照年龄分为青年、成年和老年三组,P16 的表达量与增龄成正相关。本文与两个研究结果一致。同时也有文章报道,B 淋巴细胞的衰老是由 p16INK4a 和 Arf 介导的<sup>[24]</sup>。在 Krishnamurthy 等<sup>[25]</sup>研究认为 Ink4a 的表达可以作为一种衰老标志物。在 Wood 等<sup>[26]</sup>的研究中用 T 细胞 P16 表达作为化疗和干细胞移植患者的干细胞功能和治疗效果的生物学检测指标。

本文对不同年龄段的大鼠进行外周血和免疫细胞分型测定分析,并与老龄人群进行比较医学分析,验证了老年大鼠衰老标志物 p16INK4a 升高,初步表明增龄对大鼠免疫系统产生了巨大的影响,为研究免疫衰老及老年病提供基础数据。

#### 参考文献:

[1] 李梦云, 欧阳五庆, 吴小利, 等. 激动素对衰老大鼠免疫功能及其脾淋巴细胞体外增殖的影响 [J]. 生理学报, 2014, 66(5): 605-611.

[2] Pratap UP, Hima L, Priyanka HP, et al. Noni (Morinda citrifolia L.) fruit juice reverses age-related decline in neural-immune interactions in the spleens of old F344 rats [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 198: 363-371.

[3] 李超, 张丹参, 宋金燕, 等. 衰老机制的研究进展 [J]. 空军医学杂志, 2011, 27(2): 99-101.

[4] 秦川. 实验动物学 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2016.

[5] 卢延华, 管博文, 孟爱民. 衰老动物模型及其研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 109-113.

[6] 翟青新, 黄爱军, 钱丽萍. SD 大鼠标本血量不足对凝血四项检测结果的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(10): 42-45.

[7] 柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 等. 不同周龄 SD 大鼠脏器重量及其变化趋势分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(1): 22-27.

[8] Sellers RS, Mortan D, Michael B, et al. Society of toxicologic pathology position paper: organ weight recommendations for toxicology studies [J]. Toxicol Pathol, 2007, 35(5): 751-755.

[9] 管博文, 卢延华, 苏路路. 老年和青年 C57BL/6 J 小鼠外周血及免疫细胞分型测定分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(7): 24-28.

[10] 韩燕, 朱文华, 何晓静, 等. 小反应体积实时定量 PCR 的可行性评价 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(2):

177-180.

[11] 林洪燕, 周腾坚. 永嘉县 2289 名健康老年人外周血细胞参数参考值调查分析 [J]. 中国医师杂志, 2012, 14(2): 271-273.

[12] 张海洁, 兰周燕, 石祥, 等. 不同年龄段壮族健康人群外周血细胞参数检测结果分析 [J]. 检验医学与临床, 2014(18): 2519-2520, 2525.

[13] 胡雄飞, 杨秀鸿, 陈志莲. 不同周龄雌雄 SD 大鼠血液生理生化指标比较分析 [J]. 实用预防医学, 2013, 20(10): 1173-1176.

[14] 李长雷, 舒细记, 陈晓青, 等. 不同周龄和性别的 SPF 级 SD 大鼠血液生理生化指标的测定与比较分析 [J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 58-63.

[15] 赵慧慧, 钱思轩. 老年人急性髓系白血病治疗进展: 第 57 届美国血液学会年会报道 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2016, 25(2): 79-82.

[16] 王敏. 免疫衰老与固有免疫细胞的相关研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2016, 36(1): 125-129.

[17] 李宝华, 黄娜, 陈海燕, 等. 肝癌小鼠脾脏免疫细胞的变化及其意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(13): 1980-1985.

[18] 于昉, 李楠, 杨煜, 等. 健康老年人外周血免疫细胞功能的变化 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(5): 744-745.

[19] 邓宪, 张海峰, 施云星, 等. 老年人外周血象的变化及意义 [J]. 海军医学杂志, 2004, 25(2): 145-146.

[20] 管博文, 卢延华, 苏路路, 等. 亚致死剂量  $\gamma$ -射线全身照射对小鼠造血免疫功能远期影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 50-57, 64.

[21] Zindy F, Quelle DE, Roussel MF, et al. Expression of the p16INK4a tumor suppressor versus other INK4 family members during mouse development and aging [J]. Oncogene, 1997, 15(2): 203-211.

[22] Liu Y, Sanoff HK, Cho H, et al. Expression of p16(INK4a) in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging [J]. Aging Cell, 2009, 8(5): 439-448.

[23] Melk A, Schmidt BM, Takeuchi O, et al. Expression of p16INK4a and other cell cycle regulator and senescence associated genes in aging human kidney [J]. Kidney Int, 2004, 65(2): 510-520.

[24] Signer RA, Montecino-Rodriguez E, Witte ON, et al. Aging and cancer resistance in lymphoid progenitors are linked processes conferred by p16Ink4a and Arf [J]. Genes Dev, 2008, 22(22): 3115-3120.

[25] Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging [J]. J Clin Invest, 2004, 114(9): 1299-1307.

[26] Wood WA, Krishnamurthy J, Mitin N, et al. Chemotherapy and stem cell transplantation increase p16 INK4a expression, a biomarker of T-cell aging [J]. Ebiomedicine, 2016, 11: 227-238.