

管博文,卢延华,白琳,等. SD 大鼠老龄化过程中外周血及免疫细胞表型的性别差异研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30 (12): 57-63.

Guan BW, Lu YH, Bai L, et al. Gender differences in peripheral blood and immune cell phenotypes in aging Sprague-Dawley rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(12): 57-63.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.12.009

SD 大鼠老龄化过程中外周血及免疫细胞表型的性别差异研究

管博文, 卢延华, 白琳, 石桂英, 苏路路, 王玉全, 魏强, 王卫*, 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 比较分析不同月龄 SD 大鼠外周血和免疫器官的免疫细胞分型指标性别差异。**方法** 选用 12 月龄 SD 大鼠和 2 月龄 SD 大鼠, 雌雄各半, 检测外周血细胞计数及分类、脏器指数、外周血和脾免疫细胞分型、脾 T 细胞 P16 表达量, 并对结果进行性别差异比较。**结果** 年轻大鼠的各项检测指标未见性别差异。外周血计数与分类结果显示, 与青年大鼠比较, 老年雌性大鼠白细胞下降; 老年雄性大鼠和老年雌性大鼠红细胞上升, 两项指标均具有性别差异; 老年雄性大鼠和老年雌性大鼠均表现为中性粒百分比上升、淋巴细胞百分比下降、嗜酸性粒细胞百分比升高, 未见性别差异; 外周血其他指标未见明显改变。老年雌性大鼠胸腺指数低于老年雄性大鼠; 老年雄性大鼠脾指数升高, 并高于老年雌性大鼠。外周血免疫细胞流式分析结果显示, 老年雌性大鼠辅助 T 细胞、调节 T 细胞和细胞毒性 T 细胞上升; 老年雌性大鼠 B 细胞下降; 老年雄性大鼠自然杀伤细胞升高; 这几项指标均具有性别差异。脾淋巴细胞分型结果显示, 老年雌性大鼠 CD3+ 升高, CD45RA+ 下降。脾 T 细胞 P16 表达量老年大鼠 P16 均升高, 未见性别差异。**结论** 本研究各项指标在青年组大鼠未见性别差异, 老年大鼠在外周血白细胞、红细胞计数, 中性粒、单核细胞百分比; 免疫脏器指数; 免疫细胞分型分析中调节 T 细胞, 细胞毒 T 细胞, 自然杀伤细胞, B 细胞, CD3 阳性细胞等指标改变均存在性别差异。提示老年大鼠的免疫系统的内稳态(homeostasis)平衡失调, 在老年性改变中的一些指标出现性别差异。本研究结果为研究老年疾病及衰老动物模型提供了性别对老龄化影响的基础数据。

【关键词】 老年 SD 大鼠; 性别差异, 免疫细胞分型; 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) 12-0057-07

Gender differences in peripheral blood and immune cell phenotypes in aging Sprague-Dawley rats

GUAN Bowen, LU Yanhua, BAI Lin, SHI Guiying, SU Lulu, WANG Yuquan, WEI Qiang, WANG Wei*, 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)

【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

王卫(1981—), 男, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 病原生物学。E-mail: wangw@cnilas.org * 共同通信作者

[Abstract] Objective Gender differences in immune cell types in peripheral blood and spleen were compared between aged and young Sprague-Dawley rats. **Methods** Twelve-month and 2-month-old rats were used. Rats in each age group were half male and half female. Classification and counts of peripheral blood cells, organ index, peripheral blood and spleen immune cell typing, and P16 expression in spleen T cells were determined and the result compared with respect to age and gender differences. **Results** The peripheral blood leucocyte count was decreased in the aged female rats, and there was a gender difference. The erythrocyte count was increased in both aged male rats and aged female rats, but there was a difference between them. The neutrophil percentage was increased and the lymphocyte percentage was decreased in the aged male and female rats. The eosinophil percentage was increased in the aged male and female rats. The monocyte percentage in the aged female rats was lower than that in the aged male rats. No significant changes in other peripheral blood indices were found. The thymus index of the aged female rats was decreased and was lower than that of the aged male rats. The spleen index of the aged male rats was increased and was higher than that of the aged female rats. Peripheral blood immunophenotyping indicated that the percentages of T helper cells, regulatory T cells and cytotoxic T cells were increased in the aged female rats. The percentage of B cells was decreased in the aged female rats. The percentage of natural killer cells was increased in the aged male rats. Splenic lymphocyte typing showed that numbers of CD3+ cells increased and CD45RA+ cells decreased in aged female rats. P16 expression in splenic T cells increased in all aged rats, and no gender difference was observed. **Conclusions** No gender differences were found in the various indices among young rats. Some indices showed a gender difference in aged rats, including peripheral blood leucocyte count, erythrocyte count, neutrophil percentage, monocyte percentage, thymus index, spleen index, and immune cell typing for regulatory T cells, cytotoxic T cells, natural killer cells, B cells and CD3-positive cells. These result indicate altered immune system homeostasis in aged rats, leading to gender differences in some indices in aged rats. The present result provided basic data for studying the impact of gender on aging-related diseases and animal models of aging.

[Keywords] aged rats; gender difference; immunophenotyping; immune organ; P16

中国在逐步步入老龄化国家,衰老的研究日趋重要。进入老年后,免疫系统逐渐发生改变,炎症疾病、自身免疫性疾病和恶性肿瘤的风险也随之上升。老龄化疾病的发生及转归具有明显的性别差异,对衰老发生过程中性别差异的机制受到研究者的关注^[1-2]。SD 大鼠属于封闭群动物,在遗传多样性方面更接近人群,基因,毒理和代谢与人类很接近,封闭环境和固定的饮食排除了其他干扰因素,为研究衰老过程中的性别差异提供了动物模型^[3-4]。

我们在前期研究中比较了自然衰老大鼠与青年大鼠外周血、免疫分型以及 P16 表达的差异^[5]。本文在前期工作的基础上,比较分析不同月龄 SD 大鼠在上述各项指标中的性别差异为衰老和老龄化比较医学研究提供基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

使用 SPF 级 SD 大鼠,8 周龄雄性 5 只、雌性 5 只,体重范围分别为 265~285 g 和 199~205 g。12 月龄 SPF 级 SD 大鼠雄性 10 只,雌性 10 只,体重分别为 720~970 g 和 360~490 g。所有大鼠购于北京

华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2020-0004]。在中国医学科学院医学实验动物研究所动物房屏障环境下饲养[SYXK(京)2018-0002],屏障内温度保持在 20℃~26℃,保障屏障内相对湿度为 40%~70%,内部压力大于外部压力 10 Pascal,屏障内照明亮度 15~20 lm/m² 且每隔 12 h 昼夜交替一次。经过医科院动研所伦理审查委员会的批准(IACUC MAM17001),动物福利依照 3R 原则,保障取食饮水等自由^[5]。

1.2 主要试剂与仪器

外周血荧光抗体 CD4-APC(201509)、CD45RA-APC(202313)、CD161-FITC(205608)购于 BioLegend;CD11b-PE(Mac, MA5-17512)、CD8 PE-Cy7(25-0084-80)购于 Thermofisher scientific;CD25-PE(MA1-80772)、CD3-FITC(MA1-81619)购于 eBioscience;脾淋巴细胞荧光抗体 CD3-FITC(201403)、CD45RA-APC(202313)购于 BioLegend;eBioscience™ 1×RBC Lysis Buffer 购于 Thermofisher scientific Invitrogen(00-4333-57);大鼠 T 细胞富集试剂盒购于 STEMCELL Technologies(EasySep™ Rat T Cell Isolation Kit, #19641);ficoll 分离液购于 Solarbio Life Sciences(大鼠脾单个核细胞分离液试

剂盒, P4870); 全自动血液分析仪 PentraDX120 (ABX); BD 流式分析仪 (BD FACSAria II)。

1.3 实验方法

1.3.1 外周血细胞计数及分类

使用戊巴比妥钠按照 60 mg/kg 进行腹腔注射, 麻醉。腹主动脉取血, 抗凝, 进行血计数分类检测^[6]。

1.3.2 免疫脏器指数

取大鼠大脑、胸腺和脾称重, 按照下述公式计算胸腺指数和脾指数。免疫脏器指数 = 脏器重量 (g)/大鼠大脑重量 (g)。因性别和月龄的差异, 大鼠体重差异较大, 故采用脏脑比^[7-8]。

1.3.3 外周血免疫细胞分型检测

取 50 μL 外周血, 加入 1 mL 红细胞裂解液, 室温条件下裂解 8 min 后离心 5 min, 条件 1500 r/min, 4℃。沉淀, 弃上清, 保持每个样本 100 μL 体系, 加入抗体, 条件 4℃, 避光, 孵育 30 min。2 mL PBS 洗一遍, 离心条件不变。加入 300 μL PBS 过滤到流式管中, 上机检测^[5]。

1.3.4 脾淋巴免疫细胞分型检测

制备脾细胞悬液。每个样品取 50 μL 进行检测。其余步骤同 1.3.3。

1.3.5 脾 T 细胞分离及 P16 mRNA 表达量检测

将剩余脾细胞悬液, 用 ficoll 分离单个核细胞, EasySep™ Rat T Cell Isolation Kit 富集 T 细胞。按照 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ /mL 的细胞浓度加入 TRIzol, 提取总 RNA, 保存在 -80℃。交由上海欧易生物医学科技有限公司采测定 P16 mRNA 的表达量^[9]。

1.4 统计学方法

数据处理和绘图利用软件 GraphPad Prism 6, 计量资料数据用平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。利用 ANOVA 检验和 *t* 检验进行组间差异分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血细胞计数及分类性别差异比较

外周血细胞计数结果显示, 青年雌性大鼠白细胞计数 (white blood cell, WBC) 低于雄性 ($P > 0.05$), 老年大鼠雌性比雄性低 48.83% ($P < 0.01$)。老年组大鼠与青年组大鼠同性别之间比较有降低趋势, 但

未见统计学差异。

红细胞 (red blood cell, RBC) 计数结果青年组未见性别差异。老年组雌性比雄性下降了 9.38% ($P < 0.05$)。但与青年雄性组和青年雌性组相比, 对应性别的老年组, 均有明显上升 ($P < 0.01, P < 0.05$)。

外周血白细胞分类结果显示, 青年组和老年组中性粒细胞 (neutrophilic granulocyte, NE) 百分比未见性别差异。但是相同性别中, 老年组比青年组有明显的升高, 其中老年雄性组比青年雄性组上升了 60.58% ($P < 0.01$), 老年雌性组比青年雌性组上升了 23.81% ($P < 0.05$)。

青年组和老年组淋巴细胞 (lymphocyte, LY) 百分比未见性别差异。但是相同性别中, 老年组比青年组有明显的降低。其中, 老年雄性组比青年雄性组下降 23.06% ($P < 0.01$), 老年雌性组比青年雌性组下降了 14.26% ($P < 0.05$)。

青年组及老年组嗜酸性粒细胞 (eosinophilic granulocyte, EOS) 百分比结果未见性别差异。但是老年雄性和雌性大鼠对应青年雄性和雌性大鼠均有明显上升, 分别升高了 88.16% 和 121.53% ($P < 0.05, P < 0.01$)。

老年组与青年组单核细胞 (monocyte, MO) 百分比比较未见差异, 青年 SD 大鼠未见性别差异, 老年雄性大鼠 MO 高于老年雌性大鼠 95.83%, 具有性别差异 ($P < 0.05$)。

血红蛋白 (hemoglobin, HGB) 浓度、血小板 (platelet, PLT) 计数和嗜碱性粒细胞 (basophilic granulocyte, BAS) 百分比三项结果老年组与青年组比较、性别比较未见差异。结果如表 1 所示。

2.2 免疫脏器指数

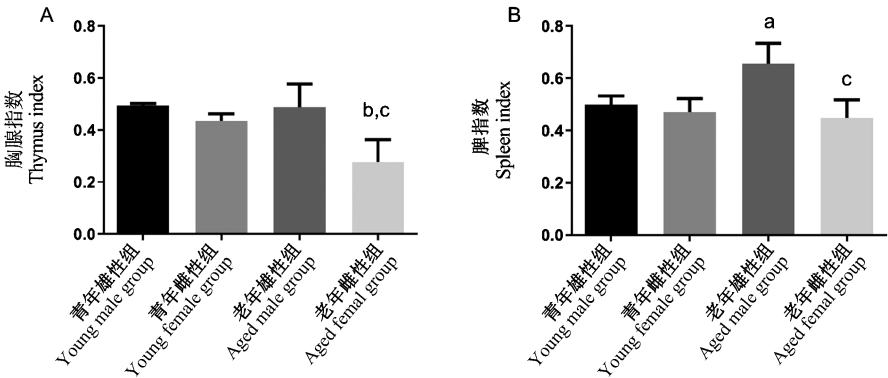
青年大鼠胸腺指数未见性别差异。老年雌性大鼠与老年雄性大鼠比较降低 43.09%, 具有性别差异 ($P < 0.01$)。与青年雌性大鼠相比, 老年雌性大鼠降低 36.27% ($P < 0.01$)。提示老年雌性大鼠出现了胸腺指数下降。青年 SD 大鼠脾指数未见性别差异。老年雄性组高于老年雌性组 46.28%, 有性别差异 ($P < 0.01$)。和青年雄性组相比, 老年雄性组上升了 31.34% ($P < 0.01$), 提示老年雄性大鼠脾指数明显上升。结果如图 1 所示。

表 1 老年大鼠与青年大鼠外周血细胞计数及分类性别差异比较

Table 1 Sex difference of peripheral blood cell counts between aged and young rat

组别\项目 Groups\Items	青年雄性组 (n=5) Young male group	青年雌性组 (n=5) Young female group	老年雄性组 (n=10) Aged male group	老年雌性组 (n=10) Aged female group
白细胞 (10 ⁹ /L) WBC	9.6±2.06	6.74±2.34	7.7±2.55	3.94±1 ^c
红细胞 (10 ¹² /L) RBC	6.21±1.2	5.84±0.15	7.6±0.36 ^a	6.89±0.42 ^{bc}
血红蛋白 (g/L) HGB	130.2±5.22	123.8±2.17	135.8±8.12	132.8±7.89
血小板 (10 ⁹ /L) PLT	772.6±202.9	919.8±121.3	854.2±126	764.7±65.97
中性粒细胞百分比 (%) NE	24.76±4.08	30.7±3.55	39.76±4.02 ^a	38.01±5.75 ^b
淋巴细胞百分比 (%) LY	72.3±4.9	66.52±3.53	55.63±4.43 ^a	57.03±6.29 ^b
嗜酸性粒细胞百分比 (%) EOS	1.52±0.68	1.44±0.57	2.86±0.93 ^a	3.19±1.01 ^b
嗜碱性粒细胞百分比 (%) BAS	1.08±0.22	1.1±0.27	1.28±0.23	1.53±0.45
单核细胞百分比 (%) MO	0.34±0.09	0.24±0.11	0.47±0.2	0.24±0.13 ^c

注:a:与青年雄性大鼠相比;b:与青年雌性大鼠相比;c:与老年雄性大鼠相比。
Note. a, Compared with young male rat. b, Compared with young female rat. c, Compared with aged male rat.



注:A:胸腺指数;B:脾指数。a:与青年雄性大鼠相比;b:与青年雌性大鼠相比;c:与老年雄性大鼠相比。

图 1 老年大鼠与青年大鼠脏器指数性别差异比较

Note. A, Thymus index. B, Spleen index. a, Compared with young male rat. b, Compared with young female rat. c, Compared with aged male rat.

Figure 1 Sex difference of organ index between aged and young rat

2.3 外周血免疫细胞分型

流式分析外周血门的设置参考之前的研究^[5]。外周血免疫细胞分型结果显示,青年组大鼠各项指标未发现性别差异。

老年组辅助 T 细胞(helper T cell,Th)未见性别差异。相比于青年雌性大鼠,老年雌性大鼠 Th 从 (27.54±3.34)% 上升到 (43.14±6.51)% ($P<0.01$)。

老年雄性大鼠调节 T 细胞(regulatory T cell,Treg)为 (3.7±0.93)%,老年雌性大鼠 Treg 为 (9.46±4.18)%,有性别差异 ($P<0.01$)。相比于青年雌

性大鼠,老年雌性大鼠 Treg 明显升高,分别为 (1.7±0.59)% 及 (9.46±4.18)%,具有明显的统计学差异 ($P<0.01$)。

老年雄性大鼠细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL)比例为 (7.79±2.26)%,与老年雌性大鼠 (16.38±5.6)% 比较,有性别差异 ($P<0.01$)。老年雄性大鼠较青年雄性大鼠,CTL 从 (13.72±1.34)% 下降到 (7.79±2.26)% ($P<0.05$)。与青年雌性大鼠比较,老年雌性大鼠 CTL 则从 (10.1±3.98)% 上升到 (16.38±5.6)% ($P<0.05$)。

老年雄性大鼠 B 细胞为 (36.48±8.09)%,老年

雌性大鼠为(26.52±5.38)%,具有明显性别差异($P<0.05$)。相比于青年雌性组,老年雌性大鼠 B 细胞从(41.66±9.82)%下降到(26.52±5.38)%,具有明显的统计学差异($P<0.01$)。

老年雄性大鼠自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)检测结果为(7.61±3.33)%,老年雌性大鼠(4.82±1.72)%,有性别差异($P<0.05$)。相比于青年雄性组,老年雄性大鼠 NK 从(3.97±0.56)%上升到(7.61±3.33)%($P<0.05$)。老年雌性组比青年雌性组有明显的上升,但未见统计学差异。

单核细胞结果中各组大鼠结果分别为(0.19±0.18)%、(0.66±0.3)%、(1.02±0.71)%和(1.00±0.64)%,未见统计学差异。结果见图 2。

2.4 脾免疫细胞分型

老年雄性大鼠脾单个核细胞 CD3 结果为(35.55±6.28)%,老年雌性大鼠(42.81±4.29)%,具有性别差异($P<0.05$)。与青年雌性大鼠相比,老年雌性大鼠从(33.72±3.51)%上升到(42.81±4.29)%($P<0.05$);青年雄性大鼠与老年雄性大鼠 CD3 结果分别为(37.7±3.54)%和(35.55±6.28)%,未见统计学差异。

CD45RA 结果中各组结果分别为(44.32±2.12)%、(48.52±3.79)%、(41.3±4.83)%和(36.08±5.08)%。相比于青年雌性组,老年雌性组从(48.52±3.79)%下降到(36.08±5.08)%($P<0.01$),雌性具有年龄差异。结果见图 3。

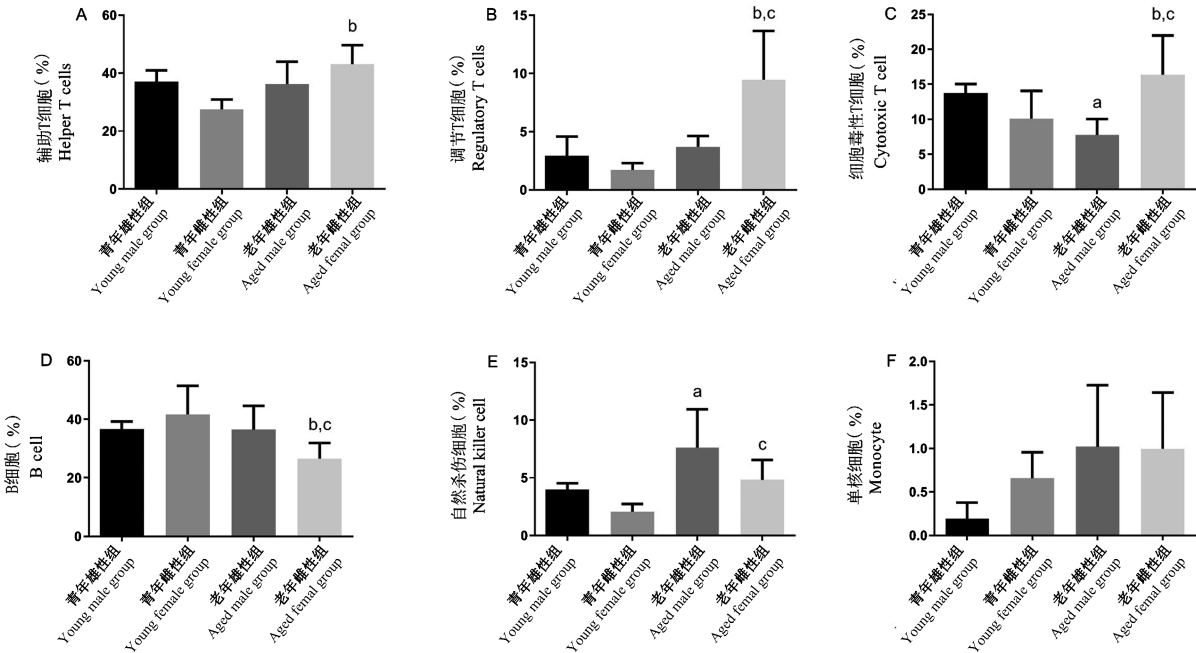
2.5 脾 T 细胞 P16 mRNA 表达量检测

分离大鼠脾 T 淋巴细胞,检测 P16mRNA 表达量,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。结果显示,相比于青年大鼠,老年大鼠上升了272.05%($P<0.01$),结果见图 4。相比于青年雄性大鼠,老年雄性大鼠上升了232.72%($P<0.01$),老年雌性大鼠比青年雌性大鼠上升了307.57%($P<0.01$)。青年组大鼠及老年组大鼠的 P16mRNA 均未见性别差异。

3 讨论

本文进行了青年、老年大鼠外周血计数及白细胞分类、免疫细胞分型、免疫脏器指数及脾细胞免疫细胞分型、脾 T 细胞 p16 表达水平的检测和性别差异比较分析。青年大鼠各项指标检测结果未见性别差异。

外周血计数及分类结果显示,老年大鼠表现为

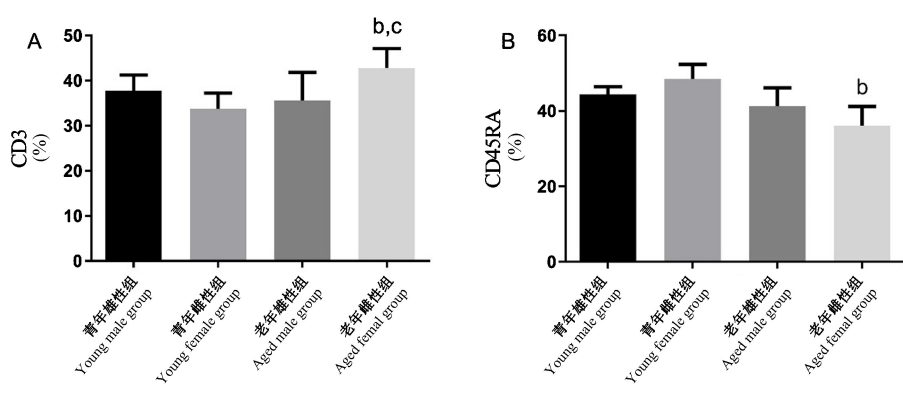


注:A:调节T细胞;B:辅助T细胞;C:细胞毒性T细胞;D:B细胞;E:自然杀伤细胞;F:单核细胞。a:与青年雄性大鼠相比;b:与青年雌性大鼠相比;c:与老年雄性大鼠相比。

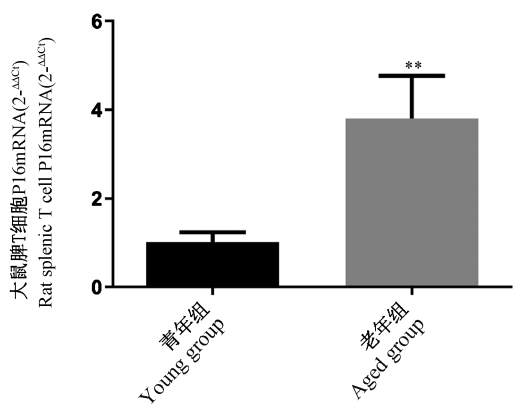
图2 老年大鼠与青年大鼠外周血免疫细胞分型性别差异比较

Note. A, Helper T cells. B, Regulatory T cells. C, Cytotoxic T cell. D, B cell. E, Natural killer cell. F, Monocyte. a, Compared with young male rat. b, Compared with young female rat. c, Compared with aged male rat.

Figure 2 Sex difference of peripheral blood immune cell typing between aged and young rat



注:A;CD3+;B;CD45RA+。b:与青年雌性大鼠相比;c:与老年雄性大鼠相比。
图 3 老年大鼠与青年大鼠脾免疫细胞分型性别差异比较
Note. A, CD3+. B, CD45RA+. b, Compared with young female rat. c, Compared with aged male rat.
Figure 3 Sex difference of spleen immune cell typing between aged and young rat



注:与青年大鼠相比, ** $P<0.01$ 。
图 4 老年大鼠和青年大鼠脾 T 细胞的 P16 mRNA 表达比较
Note. Compared with young male rat, ** $P<0.01$.
Figure 4 Comparison of P16 mRNA expression in splenic T cells between aged female rat and young female rat

WBC 下降,NE%升高,LY%降低,EOS%升高等老龄化改变。其中 WBC 出现性别差异,表现为雌性大鼠 WBC 下降更为明显。在健康老年人群中女性 WBC 低于男性^[10-11]。老年大鼠的肥胖可能也是引起 WBC 性别差异的诱因之一,在代谢综合征研究中,体重、腰围等指标与 WBC 呈明显正相关^[12]。相比于老年雌性大鼠,老年雄性大鼠的体重上升,腹部脂肪增加可能与 WBC 高于雌性有关。老年雄性大鼠的中性粒百分比上升,淋巴百分比下降,发生髓系分化偏移,这是造血系统出现衰老和易发急性髓系白血病的血液学特征^[13]。本文中主要体现为老年雄性大鼠中性粒升高,与老年男性更易患髓系白血病相契合^[14]。与之前未发表的老年 C57 小鼠结果进行对比发现,EOS%的升高属于老年性

改变,暗示着老年人造血系统的紊乱和高发湿疹皮炎等相吻合^[15-17]。

免疫细胞分型结果显示,老年大鼠 T 细胞比例升高,B 细胞降低。外周血与脾免疫细胞分型变化趋势一致。外周血 T 细胞分型检测结果显示,老年大鼠 CD4 升高,数据显示主要是老年雌性升高所致,但未见性别差异。老年大鼠 CD8、Treg 升高,也是以雌性升高为主,具有性别差异。雌性激素对 Th1 细胞具有抑制作用,对 Th2 具有刺激作用;老年雌性大鼠雌性激素水平降低,对 Th1 和 Th2 的调节作用发生变化,表现为 T 细胞比例升高和 B 细胞比例下降^[18-20]。调节性 T 细胞的上升主要是随着时间的积累而增加,但是雌激素的下降会导致雌性大鼠体内受雌激素激活的 T 细胞失去功能^[21];所以在老年状态,有些细胞数量增加但功能会减退^[22-23]。也有研究认为老年雌性大鼠 T 细胞升高和老年女性对疫苗的免疫效力要高于老年男性,同时发生不良反应概率高相吻合^[21]。

先天免疫细胞分型结果显示老年大鼠 NK 细胞比例升高,雄性高于雌性,有性别差异;老年大鼠单核细胞比例升高,未见性别差异。在朱丽华的研究中显示,健康中国成年人,大龄组的 NK 细胞百分比和绝对值有性别差异,其他各项指标无差异^[24]。与大鼠的 NK 和单核细胞比例变化结果一致。

脾 T 细胞的 p16INK4a 基因表达代表大鼠整个机体的衰老水平。我们之前的研究中发现,雄性大鼠 P16 mRNA 表达水平与衰老程度成正相关^[5]。本文检测了雌性大鼠 P16 的表达情况。相比于青年雌性大鼠,老年雌性大鼠 P16 mRNA 表达量明显升高。但老年组内未见性别差异。说明大鼠中 P16

mRNA 的表达升高主要与增龄有关,与 Liu 等^[25]和 Melk 等^[26]的结论一致。

上述结果显示,老年大鼠出现外周血 NE% 升高、LY% 降低、EOS% 升高、脾 T 细胞 P16 升高等老龄化改变,未见性别差异,提示这些改变主要与增龄有关。老龄化改变中,WBC,T 细胞和 B 细胞这三项,老年雌性大鼠变化更为显著。青年组大鼠未见明显性别差异,随着月龄的增加和激素的变化,破坏了老年大鼠的免疫系统的内稳态(homeostasis)平衡^[22, 27],尤其是处于围绝经期的雌性大鼠,雌激素下降,周期紊乱^[28],导致免疫系统衰老的进程中出现性别差异。在今后的老年化研究中,若采用单一性别动物要注意研究结果可能会与实际情况存在偏差。

参考文献:

[1] 房思思. 代谢综合征发生及转归的影响因素分析 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2014.

[2] 周玉梅, 张晶. 性别和激素水平对脉络膜循环的影响 [J]. 眼科新进展, 2002, 22(1): 33-34.

[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] Goetzl EJ, Huang MC, Kon J, et al. Gender specificity of altered human immune cytokine profiles in aging [J]. FASEB J, 2010, 24(9): 3580-3589.

[5] 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.

[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, Morton 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] 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.

[10] 沈燕, 徐冰馨, 王剑飏. 健康老年人静脉全血细胞计数参考范围调查 [J]. 检验医学, 2012, 27(11): 904-907.

[11] 莫荣新, 张志强, 郝珊, 等. 广东省肇庆市 60 岁以上老年人静脉全血细胞计数参考范围调查 [J]. 吉林医学, 2016, 37(3): 615-616.

[12] 谢讚明. 白细胞计数与社区老年人代谢综合征相关分析 [D]. 上海: 复旦大学, 2013.

[13] Pang WW, Schrier SL, Weissman IL. Age-associated changes in human hematopoietic stem cells [J]. Semin Hematol, 2017, 54(1): 39-42.

[14] 张彦. 老年急性白血病的临床分析 [D]. 青岛: 青岛大学, 2014.

[15] 卢会秀. 嗜酸性粒细胞及伴嗜酸性粒细胞增多性疾病 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.

[16] 黄英河, 罗光浦, 梁海东. 嗜酸性粒细胞计数在湿疹诊断中的应用 [J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(22): 75-76.

[17] 李春婷, 李邻峰. 外周血嗜酸性粒细胞增高对泛发湿疹患者预后的影响 [A]. 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会. 2010 全国中西医结合皮肤性病学术会议论文汇编 [C]. 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会: 中国中西医结合学会, 2010.

[18] Roved J, Westerdahl H, Hasselquist D. Sex differences in immune responses: Hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences [J]. Horm Behav, 2017, 88: 95-105.

[19] 周智军, 俞远京, 丁志刚, 等. 大豆异黄酮对老龄大鼠雌激素水平和子宫雌激素受体表达的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(4): 288-291.

[20] 江青东, 霍军, 程会昌. 大鼠不同时期血液中雌激素及孕激素的变化规律研究 [J]. 家畜生态学报, 2011, 32(5): 60-62.

[21] Flanagan KL, Fink AL, Plebanski M, et al. Sex and gender differences in the outcomes of vaccination over the life course [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2017, 33: 577-599.

[22] Pomatto LCD, Davies KJA. The role of declining adaptive homeostasis in ageing [J]. J Physiol, 2017, 595(24): 7275-7309.

[23] Pomatto LCD, Sun PY, Davies KJA. To adapt or not to adapt: consequences of declining adaptive homeostasis and proteostasis with age [J]. Mech Ageing Dev, 2019, 177: 80-87.

[24] 朱立华, 王建中. 中国人血液淋巴细胞免疫表型参考值调查 [J]. 中华检验医学杂志, 1998, 21(4): 3-5.

[25] 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(4): 439-448.

[26] 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.

[27] Pomatto LCD, Tower J, Davies KJA. Sexual dimorphism and aging differentially regulate adaptive homeostasis [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2018, 73(2): 141-149.

[28] 刘晓宇, 王娇, 钱欣, 等. 围绝经期大鼠动情周期变化的研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2014, 48(5): 358-360.