

几种常用免疫缺陷小鼠的血液学及血液淋巴细胞亚群的测定与比较分析

谈小倩, 瞿伟, 李亮, 钱珍, 顾坚忠, 徐平

(上海吉辉实验动物饲养有限公司, 上海 201103)

[摘要] 目的 测定与比较分析几种常用免疫缺陷小鼠的血液学(血常规与血清生化)指标和血液淋巴细胞亚群百分率, 为肿瘤、免疫学等研究和应用提供基础数据。方法 (1) BALB/cA-nude、SCID、NOD-SCID 和 NPSG 共 4 个免疫缺陷小鼠品系, 每品系取 6 周龄小鼠各 20 只(雌雄各半), 同周龄近交系 BALB/cA 小鼠作对照, 采血后测定血常规(30 项)和血清生化(25 项)指标; (2) 4 种免疫缺陷小鼠 6 周龄, 每品系雌雄随机各取 2 只, 用流式细胞仪检测分析淋巴细胞亚群, 同周龄近交系 BALB/cA 小鼠作对照。结果 (1) 免疫缺陷小鼠的白细胞数(WBC)、淋巴细胞数(LYMPH)、淋巴细胞百分率(LYMPH%)和中性粒细胞数(NEUT)低于 BALB/cA 小鼠($P < 0.01$), 中性粒细胞百分率(NEUT%)和网织红细胞数高于 BALB/cA 小鼠($P < 0.05$, $P < 0.01$); SCID、NOD-SCID、NPSG 小鼠的 WBC、LYMPH 和 LYMPH% 显著低于 BALB/cA-nude 小鼠($P < 0.05$), NEUT% 高于 BALB/cA-nude 小鼠($P < 0.05$)。 (2) NOD-SCID 和 NPSG 小鼠的血糖、三酰甘油水平低于 BALB/cA 小鼠($P < 0.01$), 而尿酸水平相对偏高($P < 0.05$)。 (3) BALB/cA-nude 小鼠 T 细胞严重缺失, B 细胞和自然杀伤(NK)细胞活性降低; SCID 和 NOD-SCID 小鼠 T 细胞缺失, B 细胞和 NK 细胞活性降低更加明显; NPSG 小鼠 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞均表现为缺失。结论 BALB/cA-nude、SCID、NOD-SCID 和 NPSG 小鼠的血液学性状和血液淋巴细胞亚群的百分率均符合相应免疫缺陷小鼠的品系特征。

[关键词] 免疫缺陷小鼠; 血液学; 血清生化学; 淋巴细胞亚群

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)02-0155-06

Determination and Comparative Analysis of Hematological Indexes and Percentage of Lymphocyte Subsets in Several Immunodeficient Mice

TAN Xiaoqian, QU Wei, LI Liang, QIAN Zhen, GU Jianzhong, XU Ping

(Shanghai Jihui Laboratory Animal Care Co., Ltd, Shanghai 201103, China)

Correspondence to: TAN Xiaoqian, E-mail: xiaoqian_tan@163.com

[Abstract] **Objective** To determine and compare the hematological indexes (blood biochemical and physiological indexes) and the percentage of lymphocyte subsets in immunodeficient mice, providing basic data for tumor and immunology research applications. **Methods** (1) A total of 4 immunodeficient mouse strains, BALB/cA-nude, SCID, NOD-SCID, and NPSG, were included. Twenty mice (6-week-old, half male and half female) were analyzed. Blood biochemical (25 items) and physiological indexes (30 items) were determined and compared with those of BALB/cA-nude mice of the same age. (2) Four strains of immunodeficient mice, 4 mice (6-week-old, half male and half female) were randomly selected and analyzed with flow cytometry. Their lymphocyte subsets were compared with those of BALB/cA-nude mice of the same age. **Results** (1) The white blood cell (WBC) count, lymphocyte (LYMPH) count, lymphocyte percentage (LYMPH%), and neutrophil count of immunodeficient mice were lower than those of BALB/cA mice ($P < 0.01$). In contrast, the neutrophil percentage (NEUT%) and reticulocyte count were higher than those of BALB/cA mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Furthermore, the levels of WBC, LYMPH and LYMPH% of SCID, NOD-SCID, and NPSG mice were significantly lower than those of BALB/cA-nude mice, while NEUT% was higher than that

of BALB/cA-nude mice ($P<0.05$). (2) The blood glucose and triglyceride levels in NOD-SCID and NPSG mice were lower than those in BALB/cA mice ($P<0.01$), while uric acid level was higher than that of BALB/cA mice ($P<0.05$). (3) BALB/cA mice had no T cells and low activity of B cells and natural killer (NK) cells. SCID and NOD-SCID mice had no T cells and lower activity of B cells and NK cells than BALB/cA-nude mice. NPSG mice had no T, B, and NK cells. **Conclusion** The blood biochemical and physiological indexes and the percentage of blood lymphocyte subsets in BALB/cA-nude, SCID, NOD-SCID and NPSG mice are consistent with the characteristics of corresponding immunodeficient mouse strains.

[Key words] Immunodeficient mice; Hematology; Serum biochemistry; Lymphocyte subsets

免疫缺陷小鼠已广泛应用于肿瘤学、免疫学、细胞生物学和遗传学等研究。随着生命科学研究的不断发展、免疫缺陷机制研究的深入和重度免疫缺陷动物研发的进展,免疫缺陷动物在研究中发挥越来越重要的作用^[1]。临床血液学、血清生化指标和淋巴细胞亚群分析不仅对免疫缺陷动物遗传质量控制、正常生理状态的判定以及动物饲养管理有指导意义,而且也是相关医学研究,尤其是人的免疫系统重建、肿瘤组织及骨髓细胞移植、干细胞研究,以及抗肿瘤药物研发和安全性评价等应用中的重要参考指标和依据。本研究旨在通过测定、分析常用的几种免疫缺陷动物的血液学指标、血清生化指标和淋巴细胞亚群,为不同免疫缺陷小鼠在医学研究中的恰当选择、应用和比较医学研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级近交系BALB/cA小鼠(作为对照)和4种免疫缺陷型BALB/cA-nude (BALB/cA^{Shjh^{nu/nu}})、SCID (C.B17/Icr-*Prkdc*^{scid/scid}/Shjh)、NOD-SCID (NOD.CB17/Icr-*Prkdc*^{scid/scid}/Shjh)、NPSG (NOD-*Prkdc*^{scid}IL-2 γ g^{null})小鼠,由上海吉辉实验动物饲养有限公司提供[SCXK(沪)2017-0012]。饲养环境为隔离器环境,温度20~24℃,相对湿度50%±10%,12h明暗交替光照,饲喂上海吉辉JH-M01配方全价饲料(⁶⁰Co辐照处理,辐照剂量为35kGy);饮用水为灭菌过滤水(121℃,30min高压灭菌),自由采食和饮水。

1.2 主要仪器和试剂

Sysmex XT-2000i全自动血液分析仪,购自希森美康医用电子(上海)有限公司,使用配套试剂测定血常规;Hitachi 7180型自动生化分析仪及

配套试剂盒,购自日本日立公司;BD FACS Aria II流式细胞仪及配套试剂,购自美国BD公司。

1.3 临床血液学、血清生化指标测定

5种品系的6周龄小鼠各20只(雌雄各半),禁食16h后小鼠眼眶采血800μL/只。取150μL全血加入EDTA-K2抗凝测血常规。650μL血液静置30min后放入离心机,以10000r/min离心2min,取血清用于生化指标测定。

1.3.1 血常规测定

采用全自动血液分析仪检测白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、红细胞平均压积(MCV)、平均血红蛋白量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)、红细胞分布宽度标准差(RDW-SD)、红细胞分布宽度差异(RDW-CV)、血小板体积分布宽度(PDW)、平均血小板体积(MPV)、大型血小板比率(P-LCR)、血小板压积(PCT)、中性粒细胞数(NEUT)、淋巴细胞数(LYMPH)、单核细胞数(MONO)、嗜酸性细胞数(EO)、嗜碱性细胞数(BASO)、中性粒细胞百分率(NEUT%)、淋巴细胞百分率(LYMPH%)、单核细胞百分率(MONO%)、嗜酸性细胞百分率(EO%)、嗜碱性细胞百分率(BASO%)、网织红细胞数(RET)、网织红细胞百分率(RET%)、低分化网织红细胞百分率(LFR)、中分化网织红细胞百分率(MFR)、高分化网织红细胞百分率(HFR)、未成熟网织红细胞(IRF)等30项指标。

1.3.2 血清生化检测

采用自动生化分析仪检测血清生化指标:包括丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球

蛋白 (GLOB)、白蛋白球蛋白比 (A/G)、总胆红素 (TBIL)、碱性磷酸酶 (ALP)、葡萄糖 (GLU)、尿素氮 (Urea)、肌酐 (Crea)、尿酸 (UA)、钙 (Ca)、磷 (P)、总胆固醇 (CHOL)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、钾 (K)、钠 (Na)、氯 (Cl)、血清胆碱酯酶 (CHE)、游离脂肪酸 (NEFA) 等 25 项指标。

1.4 血液淋巴细胞亚群分析

6 周龄小鼠各 2 只, 采血后用流式细胞仪分

析各品系小鼠 CD45⁺、CD11b⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、NK1.1、B220 等淋巴细胞亚群的含量。通过设门的方式, 读取其含量, 并与近交系 BALB/cA 小鼠进行比对。

1.5 统计分析

采用 SPSS1 6.0 统计学软件进行统计分析。统计数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床血液学指标比较

从表 1 可见, 4 种免疫缺陷小鼠的 WBC、

表 1 几种免疫缺陷小鼠血液学指标比较

Table 1 Comparison of hematological indexes among immunodeficient mice

项 目	BALB/cA	BALB/cA-nude	SCID	NOD-SCID	NPSG
WBC/(10 ⁹ · L ⁻¹)	7.87 ± 0.99	4.89 ± 1.69**	0.44 ± 0.08***	0.85 ± 0.16***	0.48 ± 0.10***
RBC/(10 ¹² · L ⁻¹)	10.65 ± 0.39	10.62 ± 0.32	10.46 ± 0.26	9.18 ± 0.28	7.31 ± 0.22
HGB/(g · L ⁻¹)	162.20 ± 5.16	162.70 ± 4.64	160.20 ± 4.57	146.90 ± 4.15	125.00 ± 3.39
HCT/%	45.92 ± 1.20	46.02 ± 1.06	42.94 ± 1.01	43.03 ± 1.27	41.16 ± 1.22
MCV/fL	43.14 ± 0.43	43.35 ± 0.68	41.04 ± 0.59	46.88 ± 0.67	56.26 ± 1.04
MCH/pg	15.24 ± 0.13	15.31 ± 0.22	15.31 ± 0.27	16.01 ± 0.26	17.10 ± 0.23
MCHC/(g · L ⁻¹)	353.20 ± 3.03	353.50 ± 3.29	373.10 ± 6.33	341.40 ± 6.10	303.60 ± 4.61
PLT/(10 ⁹ · L ⁻¹)	1 267.00 ± 59.71	1 348.80 ± 97.35	1 609.50 ± 73.78	1 695.10 ± 208.11	1 767.60 ± 168.24
RDW-SD/fL	28.46 ± 0.40	28.45 ± 0.77	27.80 ± 1.14	29.02 ± 0.69	38.38 ± 3.45
RDW-CV/%	22.10 ± 0.45	22.13 ± 0.52	22.77 ± 0.69	20.32 ± 0.29	20.10 ± 1.15
PDW/fL	8.86 ± 0.77	9.14 ± 0.56	8.84 ± 0.39	8.08 ± 0.20	7.16 ± 0.08
MPV/fL	7.22 ± 0.34	7.46 ± 0.24	7.32 ± 0.16	7.45 ± 0.11	7.04 ± 0.11
P-LCR/%	9.10 ± 2.86	10.72 ± 1.79	9.02 ± 1.65	8.77 ± 0.81	6.18 ± 0.48
PCT/%	0.91 ± 0.05	1.00 ± 0.06	1.17 ± 0.05	1.26 ± 0.16	1.24 ± 0.10
NEUT/(10 ⁹ · L ⁻¹)	1.28 ± 0.14	0.60 ± 0.04**	0.30 ± 0.12**	0.54 ± 0.14**	0.42 ± 0.12**
LYMPH/(10 ⁹ · L ⁻¹)	6.48 ± 0.85	3.19 ± 1.29**	0.13 ± 0.07***	0.27 ± 0.05***	0.06 ± 0.02***
MONO/(10 ⁹ · L ⁻¹)	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.03	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
EO/(10 ⁹ · L ⁻¹)	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.05	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
BASO/(10 ⁹ · L ⁻¹)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
NEUT/%	16.42 ± 1.17	34.07 ± 4.80**	65.93 ± 17.39***	62.32 ± 7.80***	86.10 ± 7.92***
LYMPH/%	82.28 ± 0.91	64.14 ± 5.00*	32.10 ± 16.94***	33.44 ± 8.62***	13.46 ± 7.39***
MONO/%	0.22 ± 0.14	0.66 ± 0.81	0.24 ± 0.72	0.12 ± 0.36	0 ± 0
EO/%	1.08 ± 0.27	0.93 ± 0.63	1.73 ± 1.14	4.12 ± 1.56	0.44 ± 0.98
BASO/%	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
RET/(10 ⁹ · L ⁻¹)	300.66 ± 37.29	564.78 ± 82.31**	479.34 ± 80.67**	594.82 ± 76.66**	593.02 ± 57.88**
RET/%	2.82 ± 0.33	5.30 ± 0.79**	4.57 ± 0.71**	6.49 ± 0.91**	6.72 ± 2.28**
LFR/%	76.16 ± 2.67	57.72 ± 3.97	67.68 ± 7.41	59.46 ± 4.49	45.00 ± 3.90
MFR/%	14.32 ± 1.49	12.65 ± 1.19	17.09 ± 2.45	16.06 ± 0.93	13.78 ± 0.63
HFR/%	9.52 ± 1.42	29.62 ± 3.60**	15.23 ± 5.60*	24.48 ± 4.56**	41.22 ± 3.74**
IRF/%	23.84 ± 2.67	42.27 ± 3.97	32.32 ± 7.41	40.54 ± 4.49	55.00 ± 3.90

注: 与 BALB/cA 小鼠相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 BALB/cA-nude 相比, + $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 SCID 小鼠相比, # $P < 0.05$; 与 NOD-SCID 相比, ≈ $P < 0.05$ 。n=20。

LYMPH、LYMPH% 和 NEUT 水平均明显低于 BALB/cA 小鼠 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), NEUT%、RET、RET% 和 HFR 则高于 BALB/cA 小鼠 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 另外, 免疫缺陷小鼠的 PLT 也相对偏高, LFR 偏低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 BALB/cA-nude 小鼠相比, SCID、NOD-SCID 和 NPSG 小鼠的 WBC、LYMPH、LYMPH%、NEUT% 变化有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 SCID 小鼠相比, NOD-SCID 和 NPSG 小鼠的 LYMPH 变化明显 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而 NOD-SCID 和 NPSG 小鼠相比, LYMPH、LYMPH% 和 NEUT% 存在差异 ($P < 0.05$)。

2.2 血清生化学指标比较

从表2可见, NOD-SCID和NPSG小鼠的AST

水平稍高于BALB/cA小鼠, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 4种免疫缺陷小鼠的TG水平明显低于BALB/cA小鼠 ($P < 0.01$); NOD-SCID和NPSG小鼠的GLU水平低于BALB/cA小鼠 ($P < 0.05$), UA水平则高于BALB/cA小鼠 ($P < 0.05$); 与BALB/cA-nude小鼠相比, SCID和NPSG小鼠的UA水平变化明显 ($P < 0.05$); 与SCID小鼠相比, NOD-SCID和NPSG小鼠的UA水平明显降低 ($P < 0.05$); 与NOD-SCID小鼠相比, NPSG小鼠的UA水平明显降低 ($P < 0.05$)。NOD-SCID和NPSG小鼠的CK、LDH水平明显高于BALB/cA、BALB/cA-nude和SCID小鼠 ($P < 0.05$)。

2.3 淋巴细胞亚群分析

从表3可见, BALB/cA小鼠T细胞、B细胞

表2 几种免疫缺陷小鼠血清生化学指标比较

Table 2 Comparison of biochemical parameters among immunodeficient mice

项 目	BALB/cA	BALB/cA-nude	SCID	NOD-SCID	NPSG
ALT/(U · L ⁻¹)	46.94 ± 3.41	42.03 ± 6.44	30.49 ± 4.62	35.96 ± 6.60	30.76 ± 5.75
AST/(U · L ⁻¹)	101.70 ± 17.89	121.49 ± 25.67	119.40 ± 36.56	141.38 ± 20.66	170.62 ± 27.01
TP/(g · L ⁻¹)	50.58 ± 2.13	53.13 ± 3.25	52.46 ± 1.11	53.77 ± 1.66	53.44 ± 1.80
ALB/(g · L ⁻¹)	29.28 ± 0.98	30.63 ± 1.26	32.26 ± 1.57	32.20 ± 0.95	31.48 ± 1.92
GLOB/(g · L ⁻¹)	21.29 ± 1.16	22.50 ± 3.35	20.20 ± 1.61	21.56 ± 1.53	21.96 ± 1.82
A/G	1.37 ± 0.03	1.38 ± 0.20	1.61 ± 0.19	1.50 ± 0.12	1.44 ± 0.17
TBIL/(μmol · L ⁻¹)	1.01 ± 0.29	1.10 ± 0.34	1.46 ± 0.19	2.85 ± 0.94	2.17 ± 0.60
ALP/(U · L ⁻¹)	174.28 ± 16.56	132.07 ± 18.34	140.96 ± 6.22	136.92 ± 23.45	175.00 ± 33.50
GLU/(μmol · L ⁻¹)	7.40 ± 0.44	6.11 ± 0.5	6.28 ± 0.38	4.93 ± 0.96*	4.47 ± 1.21*
Urea/(μmol · L ⁻¹)	6.22 ± 0.32	7.27 ± 0.82	7.90 ± 0.56	7.87 ± 0.44	8.03 ± 0.73
Crea/(μmol · L ⁻¹)	10.90 ± 0.53	11.07 ± 1.42	10.18 ± 1.66	12.02 ± 1.12	9.57 ± 1.14
UA/(μmol · L ⁻¹)	87.92 ± 7.14	149.32 ± 30.86*	172.26 ± 12.81**	140.85 ± 16.42**	105.12 ± 17.54**# ≈
Ca/(μmol · L ⁻¹)	2.35 ± 0.03	2.38 ± 0.05	2.35 ± 0.06	2.55 ± 0.04	2.42 ± 0.04
P/(μmol · L ⁻¹)	3.30 ± 0.17	2.84 ± 0.35	2.67 ± 0.38	2.92 ± 0.24	3.47 ± 0.15
CHOL/(μmol · L ⁻¹)	2.82 ± 0.16	2.26 ± 0.37	2.58 ± 0.18	2.49 ± 0.55	2.39 ± 0.34
TG/(μmol · L ⁻¹)	1.25 ± 0.20	0.45 ± 0.18**	0.43 ± 0.18**	0.77 ± 0.18**	0.61 ± 0.10**
HDL-C/(μmol · L ⁻¹)	2.43 ± 0.14	1.86 ± 0.36	2.19 ± 0.18	2.05 ± 0.42	1.76 ± 0.28
LDL-C/(μmol · L ⁻¹)	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.09 ± 0.00	0.23 ± 0.16	0.20 ± 0.02
CK/(U · L ⁻¹)	1 273.52 ± 328.71	1 234.17 ± 554.20	1 078.44 ± 165.84	1 750.83 ± 485.75**#	2 640.32 ± 566.5**# ≈
LDH/(U · L ⁻¹)	677.74 ± 196.56	596.40 ± 71.49	583.24 ± 43.30	1 362.96 ± 108.08**#	1 055.74 ± 103.38**# ≈
K/(μmol · L ⁻¹)	7.09 ± 0.18	6.58 ± 0.17	6.62 ± 0.23	7.58 ± 0.33	6.94 ± 0.23
Na/(μmol · L ⁻¹)	158.52 ± 0.52	165.59 ± 1.24	166.44 ± 0.81	163.63 ± 1.40	163.95 ± 1.52
Cl/(μmol · L ⁻¹)	109.56 ± 0.88	113.46 ± 0.78	113.45 ± 0.70	111.20 ± 2.14	111.08 ± 1.04
CHE/(U · L ⁻¹)	8 266.20 ± 365.38	8 388.70 ± 1 513.90	7 006.8 ± 685.99	9 189.30 ± 2 122.08	10 149.40 ± 2 818.02
NEFA/(μmol · L ⁻¹)	1.19 ± 0.25	1.33 ± 0.26	1.27 ± 0.30	1.56 ± 0.36	1.67 ± 0.30

注: 与BALB/cA小鼠相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与BALB/cA-nude相比, * $P < 0.05$; 与SCID小鼠相比, # $P < 0.05$; 与NOD-SCID相比, ≈ $P < 0.05$ 。n=20。

和自然杀伤（NK）细胞发育正常。BALB/cA-nude 小鼠 T 细胞缺失（CD3⁺CD4⁺ 和 CD3⁺CD8⁺ 占比均为 0%）、NK 细胞活性降低；SCID 小鼠 T 细胞缺失，B 细胞和 NK 细胞活性低下；NOD-SCID 小鼠 T 细胞缺失，B 细胞（B220 占比 0.2%）和 NK 细胞（NK1.1 占比 0.1%）几乎无活性；NPSG 小鼠 T 细胞缺失，B 细胞和 NK 细胞也几乎无活性。

表 3 几种免疫缺陷小鼠和 BALB/cA 小鼠的淋巴细胞亚群
Table 3 Lymphocyte subsets in immunodeficient mice and BALB/cA inbred mice

项 目	BALB/cA	BALB/cA-nude	SCID	NOD-SCID	NPSG
CD45 ⁺	26.80	10.70	10.20	2.20	5.40
CD11b ⁺ CD19	18.20	5.40	7.60	1.60	3.20
CD3 ⁺ CD4 ⁺	13.50	0	0	0	0
CD3 ⁺ CD8 ⁺	5.80	0	0	0	0
NK1.1	5.20	0.40	0.40	0.10	0.10
B220	15.20	4.40	0.20	0.20	0.10

注: CD45⁺ 为白细胞共同抗原, CD11b⁺CD19 为树突状细胞, CD3⁺CD4⁺ 和 CD8⁺ 为 T 细胞。

3 讨论

免疫缺陷动物本身的研究发展经历了漫长而复杂的过程。从 20 世纪 60 年代发现无毛小鼠表型^[1]，到发现胸腺发育不全，再到目前一些重度免疫缺陷小鼠的构建，免疫缺陷动物的发展史本身就是科学研究进步的缩影。由于缺失正常的免疫功能^[2]，免疫缺陷小鼠容易受到外界病原体的感染，在较高程度上接受外来移植物，在免疫、感染、肿瘤和干细胞研究中有很高的应用价值。裸小鼠由于 *Foxn1*^{nu} 基因纯合，导致小鼠的毛杆不能从表皮中长出，出现无毛表型，同时导致胸腺发育不良，T 细胞缺失；它是先天性胸腺缺陷的突变小鼠，由于第Ⅷ连锁群内无毛位点基因发生纯合而形成的突变小鼠^[3]，特别是在肿瘤学、免疫学、药品与生物制品的安全性评价及有效药品的筛选等实验方面有着特殊的价值。由于 *nu* 基因有独特的遗传特性，经过世界各国实验动物遗传育种学家的努力，已将 *nu* 基因导入不同近交系动物，成为系列动物模型。由于它们具有不同的遗传背景和 *nu* 基因的遗传特性，使医学生物学研究者获得了一种极其宝贵的试验材料。SCID 小鼠是 *Prkdc* 基因位点突变导致蛋白翻译提前终止，无法产生功能正常的抗原受体蛋白^[4]，导致 B 细胞和 T 细胞功能缺失，因而可以广泛应用于人类

免疫学和病毒学、肿瘤学、生理学、病理学等方面研究及单克隆抗体的制备等^[5]。然而并非所有 SCID 小鼠都缺乏功能性淋巴细胞，有 2%~23% 的个体具有有限数量的 T 细胞和 B 细胞，并可恢复部分免疫功能，即所谓的 SCID 小鼠渗漏现象^[6]。而用血糖代谢异常、存在包括 NK 细胞功能和补体（C5）功能在内的多种免疫缺陷的 NOD 小鼠与 SCID 小鼠杂交后，再连续用 NOD 小鼠回交（10 代以上）后得到 *scid* 突变纯合的同源导入近交系（congenic inbred strain）NOD-SCID 小鼠^[7]，*Prkdc* 位点缺失，T 细胞和 B 细胞缺失，NK 细胞功能缺陷，还具有支持更高水平人体造血细胞植入的能力，成为人源化小鼠的一个很好的模型，现已广泛应用于同种和异种肿瘤移植、血液学研究、免疫学及炎症研究，以及糖尿病和肥胖研究等^[8]。人源化小鼠经历了 40 多年的发展，现已经在诸如造血功能、感染性疾病、自身免疫病以及肿瘤学研究^[9]等多领域显现出其独特作用，显示出用于体内研究人类生理及病理的优势。NPSG 小鼠以 NOD 近交系小鼠为背景，在 *Prkdc* 基因上进行点突变，制成重度联合免疫缺陷的 NOD-SCID 小鼠（T、B 淋巴细胞和部分 NK 细胞都有缺陷），在此基础上再将具有重要免疫调节功能的 IL2 受体的 γ 链基因敲除，使得 NK 细胞也基本失去功能，同时造成部分免疫

因子(白细胞介素、补体等)功能缺陷,是人源化研究的重要模型之一。

本实验使用的动物均饲养在隔离器环境,自由采食饮水,饲料一致,饲养人员稳定,环境可控。因此,所测试的动物血液常规、血生化以及血液淋巴细胞亚群分析数据均能体现其自然状态下的正常情况,而不同品系动物因为免疫缺陷程度不同存在着某些与免疫力相关指标的差异。从血常规指标测定分析结果可以看出,免疫缺陷动物的WBC极显著低于正常动物,而SCID、NOD-SCID、NPSG小鼠的WBC显著低于BALB/cA-nude ($P < 0.05$);由此可见,上述指标与免疫缺陷程度有关,免疫缺陷程度越高,WBC越低。白细胞五分类中,免疫缺陷小鼠的LYMPH、LYMPH%和NEUT也显著低于BALB/cA小鼠 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);而NEUT%、RET%和RET则明显高于BALB/cA小鼠 ($P < 0.01$)。

血清生化分析发现,免疫缺陷与免疫正常的动物除GLU、TG、UA、CK和LDH外,其他指标差异没有统计学意义,且与免疫缺陷程度无关。流式细胞分析结果验证免疫缺陷动物的血液淋巴细胞亚群的发育情况,发现:裸小鼠的T细胞缺失,NK细胞活性降低;SCID小鼠的T细胞缺失,B细胞和NK细胞活性下降;NOD-SCID小鼠的T、B细胞缺失,NK细胞活性低下;而NPSG小鼠除T、B细胞缺失外,NK细胞几乎无活性。另外,根据本公司对外提供的小鼠生长发育数据比较发现,同周龄BALB/cA小鼠体质量高于NOD-SCID、NPSG小鼠^[8]。

本研究分析了几种常见免疫缺陷小鼠的血液生理、血清生化和血液淋巴细胞亚群的相关数据,后续将对这些品系小鼠的血清免疫学以及脏器等基础数据进行持续性测试和比较分析,形成各品系的系统基础数据,为科学研究提供支撑保障。

参考文献:

- [1] PANTELOURIS E M. Absence of thymus in a mouse mutant[J]. *Nature*, 1968, 217(5126):370-371. DOI:10.1038/217370a0.
- [2] RYGAARD J, POVLSEN C O. The mouse mutant nude does not develop spontaneous tumours[J]. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B Microbiol Immunol*, 2009, 82B(1):99-106. DOI:10.1111/j.1699-0463.1974.tb02299.x.
- [3] SEGREG J A, NEMHAUSER J L, TAYLOR B A, et al. Positional cloning of the nude locus: Genetic, physical, and transcription maps of the region and mutations in the mouse and rat[J]. *Genomics*, 1995, 28(3):549-559. DOI: 10.1006/geno.1995.1187.
- [4] 范文平, 李冠民. SCID小鼠几个特性的检测及其初步应用[J]. *北京实验动物科学与管理*, 1994(4):12-14.
- [5] QI L, KOGISO M, DU Y, et al. Impact of SCID mouse gender on tumorigenicity, xenograft growth and drug-response in a large panel of orthotopic PDX models of pediatric brain tumors[J]. *Cancer Lett*, 2020, 493:197-206. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.08.035.
- [6] 杨红, 刘建兴, 周泽平, 等. 应用SCID和NOD/SCID小鼠构建急性髓系白血病模型成瘤率的比较[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(2):328-334. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2015.02.007.
- [7] 石桂英, 白琳. 免疫缺陷小鼠和人源化小鼠模型在干细胞质量控制中的应用[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(10):132-137. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.10.020.
- [8] PALUCKA A K, GATLIN J, BLANCK J P, et al. Human dendritic cell subsets in NOD/SCID mice engrafted with CD34⁺ hematopoietic progenitors[J]. *Blood*, 2003, 102(9): 3302-3310. DOI:10.1182/blood-2003-02-0384.
- [9] BILLERBECK E, BARRY W T, MU K, et al. Development of human CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in human stem cell factor-, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-, and interleukin-3-expressing NOD-SCID IL2R γ (null) humanized mice[J]. *Blood*, 2011, 117(11):3076-3086. DOI: 10.1182/blood-2010-08-301507.

(收稿日期: 2020-08-19 修回日期: 2021-03-01)