

包峰云,龙红,秦廷洋,等. 自发矮小症突变大鼠家系的建立及其主要生物学特性测定 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 792-799.

Bao FY, Long H, Qin TY, et al. Establishment of a rat model family with spontaneous short stature and identification of its main biological characteristics [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(6): 792-799.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.06.008

自发矮小症突变大鼠家系的建立及其主要生物学特性测定

包峰云,龙红,秦廷洋,霍春茂,唐克桐,张仕斌*

(贵州遵义医科大学实验动物中心,贵州 遵义 563006)

【摘要】 目的 建立自发常染色体显性突变矮小症 SD 大鼠模型家系,测定其主要生物学特性数据。**方法** 将封闭群 SD 大鼠生产群中出现的矮小症突变个体扩群繁殖建立家系,统计后代中矮小症与正常个体的性状分离比例,鉴定其遗传模式;测定家系个体的体重、体尺,主要脏器重量及指数,血液生理(18 项)生化(20 项)等指标以及繁殖性能等数据,明确突变个体的表型特征及生物学特性。**结果** 建立了自发常染色体显性突变的矮小症 SD 大鼠封闭群家系,家系暂时命名为 SSR;成年(12 周龄)SSR 体重分别为野生型的 57%(♂)和 65%(♀),差异极具显著($P < 0.01$);成年 SSR 体长、尾长、胫骨长、股骨长等体尺数据以及主要脏器(心、肝、脾、肺、肾、睾丸/卵巢)重量均显著低于野生型大鼠($P < 0.01$);成年 SSR 胫骨长、股骨长指数及主要脏器(心、肝、脾、肺、肾、睾丸/卵巢)指数与野生型之间无显著性差异($P > 0.05$);成年雌性 SSR 生殖器官发育正常,但不排卵。**结论** 建立了能稳定遗传的自发常染色体显性突变的矮小症 SD 大鼠家系,可作为人类生长发育及生殖功能研究的动物模型。

【关键词】 矮小症;SD 大鼠;动物模型;表型鉴定

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 06-0792-08

Establishment of a rat model family with spontaneous short stature and identification of its main biological characteristics

BAO Fengyun, LONG Hong, QIN Tingyang, HUO Chunmao, TANG Ketong, ZHANG Shibin*

(Laboratory Animal Center of Zunyi Medical University, Zunyi 563006, China)

Corresponding author: ZHANG Shibin. E-mail: 574610922@qq.com

【Abstract】 Objective The aim of this study was to establish a rat model of spontaneous short stature associated with female infertility. The main biological characteristics of the rat model were then identified. **Methods** The pedigree of mutant individuals with a short stature in the production group of SD rats was established by expanding the population. The proportion of offspring of mutant individuals with a short stature and that of the normal individuals was calculated and the genetic model was identified. Weight, body size, weight and index of main organs, blood physiology (18 items), biochemistry (20 items), and reproductive performance of the mutant individuals were determined to clarify their phenotypic characteristics and biological characteristics. **Results** A family of SD rats with idiopathic autosomal dominant mutations was established, which was named SSR. Adult (12 weeks old) SSR rat weights were 57% of wildtype (♂) and 65% (♀), Very significant difference ($P < 0.01$). The body length, tail length, tibia length, femur length and other body size data of adult SSR and the weight of main organs (heart, liver, spleen, lungs, kidneys, testes/ovaries) were

[基金项目] 2022 年度贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwbj2022-397)。

Funded by 2022 Guizhou Provincial Health Commission Science and Technology Fund Project(gzwbj2022-397)。

[作者简介] 包峰云(1996—),男,硕士,研究方向:人类疾病动物模型。Email:2605630383@qq.com

[通信作者] 张仕斌(1981—),男,副教授,硕士生导师,研究方向:实验动物。Email:574610922@qq.com

significantly lower than those of wild type rats ($P < 0.01$); There were no significant differences in the adult SSR rat shinbone length, femoral bone length index, or major organ indexes, compared with the wildtype ($P > 0.05$). Reproductive organ development of adult female rats was normal, but ovulation was not observed. **Conclusions** Spontaneous autosomal dominant mutations in dwarfism lines that can be stably inherited were established, which can be used as an applied study for human growth and infertility models. Female individuals were found to be infertile during the study, but further studies are needed to determine whether infertile individuals can have children.

【**Keywords**】 short stature; SD rat; animal model; phenotypic identification

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

矮小症(short stature, SS)是影响人口素质的重要因素之一,我国儿童矮小症患病率约 3%^[1],即约有 800 万矮小症患者,并且以 16.1 万的年增速递增。因此,开展矮小症病因诊断、干预、预后、预防研究对于提高人口素质具有非常重要的现实意义和社会意义。矮小症常见的病因包括:骨骼系统疾病如软骨发育不良^[2];先天性酶的代谢缺陷如粘多糖病和肝糖原累积症^[3];内分泌激素分泌不足^[4],甲状腺功能减退^[5](克汀病)等等。矮小症的病因仅通过临床评估能发现的不超过 40%^[6],大部分的病因都与遗传有关,需要通过基因检测明确和诊断。

动物模型是开展人类矮小症研究必不可少的工具。有 4 种比较著名和常用的自发常染色体隐性突变矮小症啮齿类模型:Snell 小鼠(dw)、Ames 小鼠(df)、spontaneous dwarf 大鼠(SDR)和 Little 小鼠(lt)。dw 小鼠是由编码脑垂体转录因子 Pit-1 基因发生点突变引起的,突变后导致 3 种脑垂体细胞系发育障碍^[7];df 小鼠则是由于转录因子 Prop-1 基因发生突变,通过 Pit-1 基因的激活因子发生作用的^[8];SDR 大鼠主要是生长激素(GH)调控的基因发生了突变^[9];lt 小鼠则是由于编码生长激素释放激素受体的基因发生了错义突变,导致生长激素释放激素受体失去了与生长素释放激素特定结合的能力^[10]。矮小症动物模型除主要用于生长发育相关研究外,也在睡眠^[11-12]、认知^[13]、应激^[14]、能量代谢^[15]、抗肿瘤^[16-18]等方面开展了相关性及其机制的应用研究,凸显出越来越广泛的新的应用价值。矮小症动物模型更多的应用特性及其机理则需要开展更广泛深入的研究。

国内陈芷沅教授^[19]最早于 1982 年在津白 3(TA3)小鼠群体中发现矮小症小鼠,经过十多年的繁殖与选种培育成近交系。姚菊芳等^[20]于 2016 年在 Wistar 大鼠繁育群中意外发现矮小突变个体,经过 22~23 代全同胞兄妹交配培育成近交系,但未鉴定到致病基因。Cui 等^[21]于 2015 年利用锌指核酸

酶技术(ZFNs)制备了生长激素受体(GHR)基因突变的矮小症小型猪模型。Yu 等^[22]又于 2018 年利用 dual-sgRNAs/Cas9 system 制备了 GHR 基因修饰的矮小症小型猪。尽管如此,国内矮小症动物模型资源仍显稀少。

遵义医科大学实验动物中心在封闭群 SD 大鼠的繁育过程中偶然发现 2 只自发矮小症的雄性个体,本研究通过将突变个体与野生型个体配种进行扩群繁殖建立家系,初步对家系个体进行了表型特征及遗传模式的鉴定。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

用于创建家系的 2 只 SPF 级雄性矮小症突变 SD 大鼠和 6 只雌性野生型 SD 大鼠,体重分别为 160~190 g 和 270~290 g,均 12 周龄,遗传背景为封闭群,来源于遵义医科大学实验动物中心【SCXK(黔)2021-0002】,饲养于本中心 SPF 级大鼠饲养室【SYXK(黔)2021-0004】。实验大鼠饲养期间自由饮水,饲喂由江苏省协同医药生物工程责任有限公司【苏饲证(2019)01008】提供的生长繁殖饲料,饲养环境:昼夜各半循环照明,温度控制在 20~26℃,相对湿度控制在 40%~70%。动物实验符合遵义医科大学实验动物福利伦理管理相关要求(ZMU22-2203-530)。

1.1.2 主要试剂与仪器

孕马血清促性腺激素(PMSG),人绒毛膜促性腺激素(hCG)(宁波第二激素厂)。

FA2204 电子天平(上海浦春计量仪器有限公司);不锈钢直尺;HF-400B 型宠物 DR(江苏康派医疗科技有限公司);斯玛特 SMT-120VP 生化分析仪(成都斯马特科技有限公司);迈瑞 BC-2800Vet 动物专用血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 矮小症突变大鼠扩群繁殖建立家系及其遗传模式鉴定

将 2 只 12 周龄矮小症雄性 SD 大鼠按 1 : 3 与野生型雌鼠合笼配种,在出生的 F1 代个体中,将体重小于群体均值 2 倍标准差者判定为矮小症突变个体,计算突变型与野生型分离比例,作遗传性卡方检验以判定其遗传模式。对建立的矮小症 SD 大鼠家系按照国际标准命名法则进行命名。

1.2.2 生长曲线及成年大鼠体重、体尺测量以及骨发育情况检测

使用电子秤直接测定 3 周龄(离乳)至 12 周龄(成年)各周龄大鼠体重,按性别及性状分组作生长曲线,并以 12 周龄体重数据作差异显著性检验;使用不锈钢直尺测定 12 周龄大鼠体长、尾长;使用 HF-400B 型宠物 DR 对成年大鼠进行 X 光拍摄,着重观察长骨(胫骨及股骨)软骨发育情况及其之间关节腔间隙大小,测量胫骨长及股骨长,同时分别计算胫骨长指数及股骨长指数,按不同性别及不同性状作差异显著性检验。胫骨长指数和股骨长指数可分别反映这 2 种长骨的发育情况,计算方法为:胫骨长指数=胫骨长/体长 $\times 100\%$,股骨长指数=股骨长/体长 $\times 100\%$,数值偏小表明发育不良。

1.2.3 成年脏器重量及指数

使用电子天平测定 12 周龄矮小症大鼠和野生型大鼠主要脏器重量,计数脏器指数并进行差异显著性检验。

1.2.4 成年血液生理生化指标

采用眼眶静脉丛采血方法采集 12 周龄大鼠全血用于测定 18 项血液生理指标及 20 项血液生化指标。18 项血液生理指标例如白细胞总数(WBC)、淋巴细胞数目(Lymph)、单核细胞数目(Mon)等分别按不同性别及不同性状作差异显著性检验;20 项血液生化指标例如白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、球蛋白(GLOB)等各项指标分别按不同性别及不同性状作差异显著性检验。

1.2.5 成年雌性矮小症大鼠发情周期及排卵检测

选择 6 只成年矮小症雌性大鼠,采用阴道涂片方法连续 5 d 检测其发情情况。采用超数排卵方法检测成年矮小症雌性大鼠是否排卵:对 6 只成年矮小症雌性大鼠于 16:00 开始每只注射 10 IU PMSG,间隔 48 h 后每只注射 10 IU hCG,注射 hCG 后按 1 : 1 与野生型雄鼠合笼,合笼后第 2 天 9:00 采用麻醉呼吸机麻醉大鼠,然后采用颈椎脱位法处死大

鼠,接着解剖大鼠剪取输卵管,在体视显微镜下划开输卵管膨大部采集受精卵并计数。

1.3 统计学分析

测定数值以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用独立 t 检验作差异显著性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 矮小症大鼠命名及遗传模式鉴定

参照国际命名法则,暂时将矮小症大鼠命名为 SSR(short stature rat, SSR)。将 2 只 SSR 雄鼠与野生型雌鼠交配后,获得的 82 只 F1 代个体中突变型个体 39 只(18 $\uparrow$ 21 $\downarrow$),野生型个体 43 只(20 $\uparrow$ 23 $\downarrow$),性状分离比例符合 1 : 1 的分配比例,性状在不同性别间无差异分布,卡方适合性检验(表 1)表明矮小症性状遗传模式符合常染色体单基因显性遗传的孟德尔定律。

表 1 矮小症 SD 大鼠家系 F1 代性状统计及卡方检验

Table 1 Trait statistics and chi square test of F1 generation of

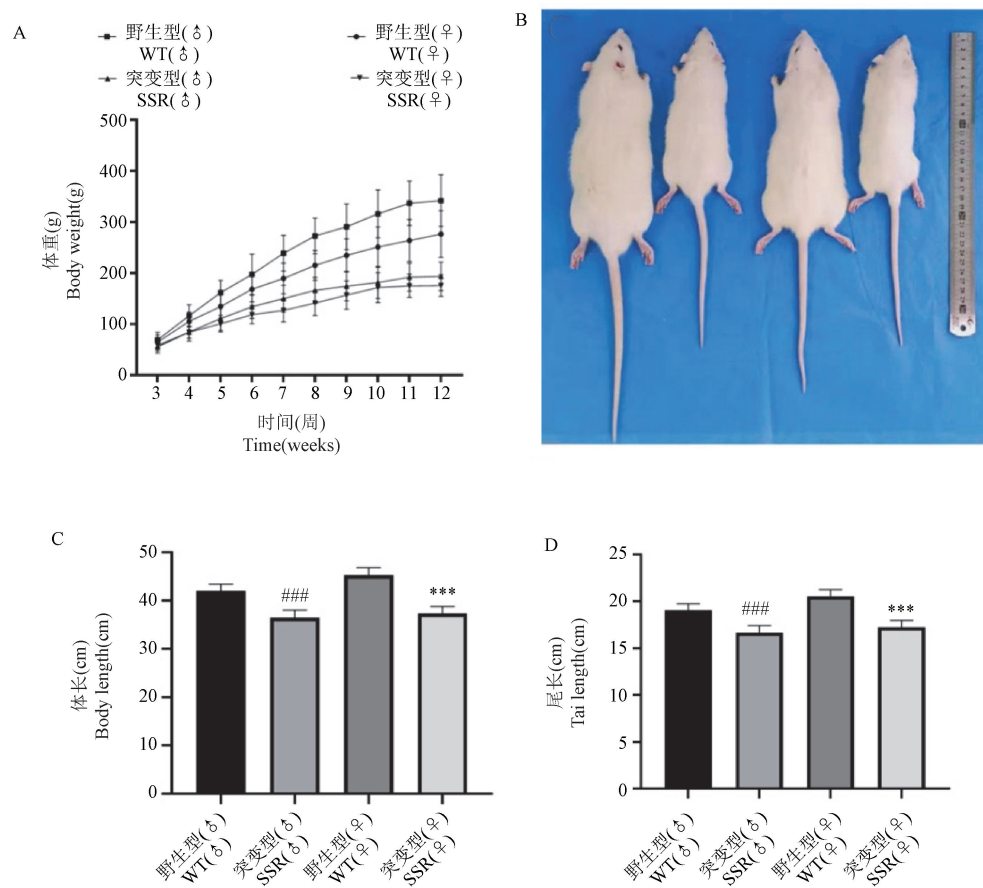
性状类别 Traits type	short stature SD rats			
	观察次数 O	理论次数 E	O-E	χ^2
突变型 MT	39	41	-2	0.0548
野生型 WT	43	41	2	0.0548
总和 Total	82	82	0	0.1096

注: $\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E} = 0.1096 < \chi^2_{0.05(1)}$

2.2 SSR 生长曲线及成年体重、体尺数据以及骨发育情况

生长曲线(图 1A)显示,SSR 从 3 周龄至 12 周龄各周龄体重均明显小于同年龄、同性别野生型大鼠。两种性别成年 SSR 体重分别为野生型的 57%($\uparrow$)和 65%($\downarrow$),差异极具显著性($P < 0.01$,图 1A)。成年 SSR 大鼠与野生型个体外观比较见图 1B,成年 SSR 体长(图 1C)、尾长(图 1D)均低于同年龄、同性别野生型大鼠,差异极具显著性($P < 0.01$)。

成年 SSR 长骨关节间隙未见增大(图 2A),表明长骨软骨发育未见异常,股骨长(图 2B)、胫骨长(图 2C)均低于同年龄、同性别野生型大鼠,差异极具显著性($P < 0.01$),而胫骨长及股骨长占体长比例在不同性别及性状间差异不显著(表 2, $P > 0.05$),表明 SSR 长骨发育相对正常,为匀称型身材矮小症。



注:与雌性野生型相比,*** $P < 0.01$;与雄性野生型相比,### $P < 0.01$ 。(下图同)

图 1 SSR 生长曲线、成年体重及体尺比较

Note. Compared with females WT, *** $P < 0.01$. Compared with males WT, ### $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Growth curves of SSR and macroscopic findings regarding body weight, body length and tail length

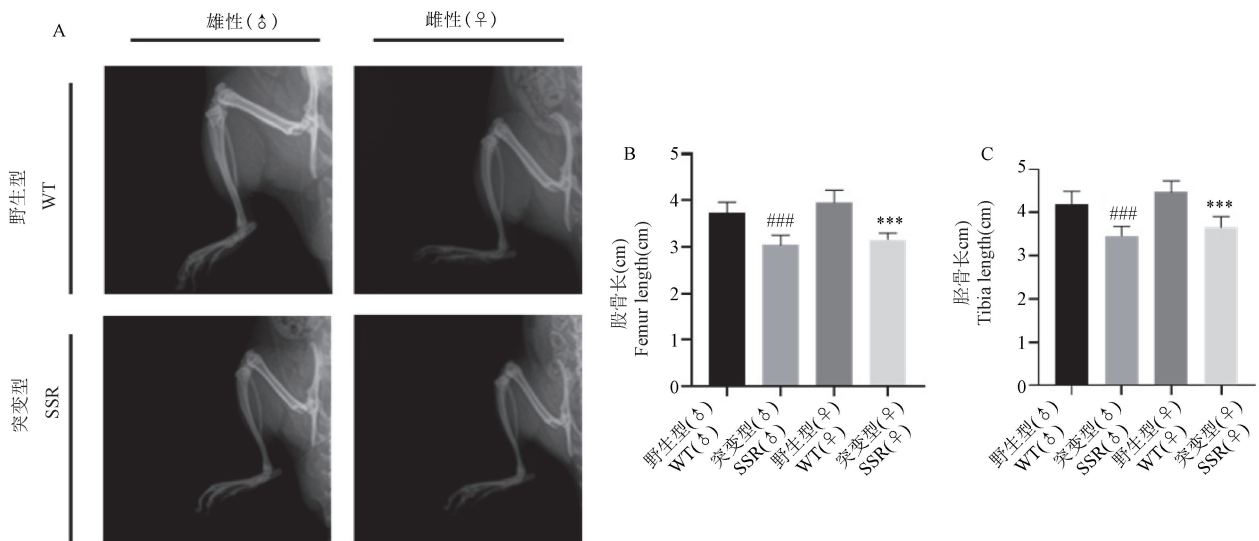


图 2 X 光显示 SSR 骨发育情况及胫骨、股骨长度比较

Figure 2 Radio graphic findings regarding the lengths of the femur and tibia

表 2 成年 SSR 与野生型大鼠体尺(胫骨长、股骨长)指数比较($n=10$)

Table 2 Body size (tibia lengths and femur lengths) indexes of adult SSR and widetype rats($n=10$)

性别 Sex		胫骨长指数 Tibia length index	股骨长指数 Femur length index
雄性(♂)	SSR	10.24 ± 0.66	8.84 ± 0.43
Males(♂)	WT	9.92 ± 0.46	8.76 ± 0.45
雌性(♀)	SSR	9.98 ± 0.46	8.77 ± 0.48
Female(♀)	WT	10.23 ± 0.27	9.09 ± 0.20

2.3 成年 SSR 脏器重量及指数

成年 SSR 与野生型大鼠主要脏器重量比较见表 3,除卵巢外,SSR 的心、肝、脾、肺、肾及睾丸重量均显著低于野生型大鼠($P < 0.01$)。

脏器指数中(见表 4),成年雄性及雌性 SSR 的肝指数均显著低于野生型大鼠,而成年雄性 SSR 辜

丸指数显著高于野生型大鼠。

2.4 成年 SSR 与野生型大鼠血液生理生化指标比较

18 项血液生理指标测定结果中雄性 SSR 淋巴细胞百分比、单核细胞百分比、中性粒细胞百分比,较野生型差异极显著($P < 0.01$),雌性 SSR 白细胞总数、淋巴细胞数目,较野生型相比显著性差异($P < 0.05$)。20 项血液生化指标测定结果中雌雄 SSR 较野生型各项指标无显著性差异($P > 0.05$)(见表 5,表 6)。

2.5 成年雌性 SSR 繁殖能力检测

阴道涂片检测见图 3,未发现成年雌性 SSR 发情周期异常;超数排卵实验表明,成年雌性 SSR 未发生排卵,但对卵巢组织进行病理切片 HE 染色,观察到卵泡发育(见图 4)。导致雌性 SSR 不孕的病理原因还需进一步检测。

表 3 成年 SSR 与野生型大鼠主要脏器重量比较

Table 3 Main organ weights of adult SSR and wide type rats

性别 Sex		心 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lung	肾 Kidney	睾丸 Testis	卵巢 Ovary
雄性(♂)	SSR($n=11$)	0.73 ± 0.11**	6.78 ± 1.36**	0.31 ± 0.04**	1.23 ± 0.28**	1.33 ± 0.21**	2.39 ± 0.27**	-
Males(♂)	WT($n=12$)	1.56 ± 0.36	20.55 ± 2.99	0.72 ± 0.09	3.28 ± 1.25	3.37 ± 0.43	3.37 ± 0.48	-
雌性(♀)	SSR($n=15$)	0.62 ± 0.08**	6.32 ± 1.01**	0.29 ± 0.06**	1.18 ± 0.26**	1.22 ± 0.17**	-	0.11 ± 0.06
Female(♀)	WT($n=12$)	1.08 ± 0.20	14.48 ± 4.41	0.74 ± 0.32	2.43 ± 1.38	2.40 ± 0.26	-	0.11 ± 0.02

注:与野生型比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with WT,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.(The same in the following tables)

表 4 成年 SSR 与野生型大鼠主要脏器指数比较

Table 4 Organ indexes of adult SSR and wide type rats

性别 Sex		心 Heart	肝 Live	脾 Spleen	肺 Lung	肾 Kidney	睾丸 Testis	卵巢 Ovary
雄性(♂)	SSR($n=10$)	3.43 ± 0.57	31.84 ± 4.84**	1.46 ± 0.28	5.78 ± 1.14	6.27 ± 0.87	11.29 ± 1.28**	-
Males(♂)	WT($n=11$)	3.10 ± 0.57	40.96 ± 4.81	1.45 ± 0.16	6.49 ± 2.26	6.71 ± 0.68	6.75 ± 1.02	-
雌性(♀)	SSR($n=10$)	3.34 ± 0.40	33.69 ± 3.85**	1.55 ± 0.32**	6.27 ± 1.04	6.54 ± 0.66*	-	0.59 ± 0.32
Female(♀)	WT($n=10$)	3.25 ± 0.30	43.05 ± 8.68	1.92 ± 0.44	7.22 ± 3.73	7.30 ± 0.88	-	0.27 ± 0.14

3 讨论

本实验对遵义医科大学实验动物中心封闭群 SD 大鼠生产群中自发突变的矮小症个体进行扩群繁殖建立了家系,家系暂时命名为 SSR。SSR 的遗传学及生物学特性明显不同于已报道的几种矮小症或侏儒症小鼠/大鼠模型。已报道的 Snell 小

鼠^[7]、Ames 小鼠^[8]、SDR 大鼠^[9]、Little 小鼠^[10]、CCI 大鼠^[2]均为常染色体隐性遗传,其中 CCI 大鼠隐性纯合突变个体表现出完全不育的性状。姚菊芳等^[20]报道的 SWDR 大鼠的雌性突变个体具有繁殖能力,只是繁殖性能低于野生型大鼠,但突变性状的遗传机制尚不明确。本实验创建的 SSR 家系其遗传模式为常染色体显性遗传,性状表现为明显的

表 5 成年 SSR 与野生型大鼠血液生理指标比较

Table 5 Blood physiological indexes of adult SSR and wide type rats						
项目 Project		白细胞总数 (10 ⁹ /L)	淋巴细胞数目 (10 ⁹ /L)	单核细胞数目 (10 ⁹ /L)	中性粒细胞数目 (10 ⁹ /L)	淋巴细胞百分比 (%)
		WBC(10 ⁹ /L)	Lymph(10 ⁹ /L)	Mon(10 ⁹ /L)	Gran(10 ⁹ /L)	Lymph(%)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	6.23 ± 1.97	3.50 ± 1.14	0.43 ± 0.13	2.30 ± 0.77	0.56 ± 0.05**
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 6)	8.25 ± 3.04	5.92 ± 2.07	0.32 ± 0.13	2.02 ± 0.93	0.72 ± 0.04
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	5.18 ± 3.58*	3.93 ± 1.87*	0.29 ± 0.19	1.67 ± 1.27	0.68 ± 0.07
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	9.52 ± 2.75	7.20 ± 2.38	0.34 ± 0.09	1.98 ± 0.51	0.75 ± 0.05
项目 Project		单核细胞百分比 (%)	中性粒细胞 百分比(%)	红细胞数目 (10 ¹² /L)	血红蛋白 (g/L)	红细胞压积 (%)
		Mon(%)	Gran(%)	RBC(10 ¹² /L)	HGB(g/L)	HCT(%)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	0.07 ± 0.01**	0.37 ± 0.04**	9.95 ± 0.29	166.25 ± 6.55	0.53 ± 0.03
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 6)	0.04 ± 0.01	0.24 ± 0.04	10.24 ± 0.77	183.50 ± 13.28	0.58 ± 0.04
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	0.05 ± 0.01	0.27 ± 0.06	7.14 ± 3.04	115.63 ± 60.75	0.40 ± 0.17
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	0.04 ± 0.01	0.21 ± 0.04	6.87 ± 4.18	155.80 ± 35.12	0.50 ± 0.11
项目 Project		平均红细胞体积 (fL)	平均红细胞血红 蛋白含量(pg)	平均红细胞血红 蛋白浓度	红细胞分布宽度 变异系数(g/L)	血小板数目 (10 ⁹ /L)
		MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC	RDW(g/L)	PLT(10 ⁹ /L)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	53.38 ± 2.74	16.70 ± 0.78	313.25 ± 6.50	0.12 ± 0.01	1119.00 ± 337.92
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 6)	56.85 ± 2.07	17.90 ± 0.62	315.50 ± 6.16	0.11 ± 0.01	1182.33 ± 867.04
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	56.94 ± 3.85	15.24 ± 4.58	273.38 ± 86.70	0.12 ± 0.02	1042.75 ± 618.23
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	57.34 ± 2.11	17.68 ± 0.54	309.20 ± 5.26	2.27 ± 4.82	1122.00 ± 343.74
项目 Project		平均血小板 体积(fL)	血小板分布 宽度	血小板压积 (%)		
		MPV(fL)	PDW	PCT(%)		
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	6.30 ± 0.33	15.85 ± 0.26	0.0062 ± 0.0007		
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 6)	6.37 ± 0.20	16.33 ± 0.43	0.0033 ± 0.0024		
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	6.40 ± 0.63	16.26 ± 0.60	0.0045 ± 0.0017		
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	6.18 ± 0.15	15.92 ± 0.13	0.0050 ± 0.0023		

表 6 成年 SSR 与野生型大鼠血液生化指标比较

Table 6 Blood biochemical indices of adult SSR and wide type rats						
项目 Project		白蛋白(g/L)	总蛋白(g/L)	球蛋白(g/L)	白球比(%)	丙氨酸氨基 转移酶(U/L)
		ALB(g/L)	TP(g/L)	Glob(g/L)	A/G(%)	ALT(U/L)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	33.68 ± 1.19	68.69 ± 2.32	35.03 ± 1.70	0.96 ± 0.05	50.25 ± 11.03
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 5)	34.44 ± 1.87	70.32 ± 4.49	35.88 ± 2.86	0.96 ± 0.05	151.40 ± 221.24
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	33.68 ± 1.21	66.79 ± 2.46	33.13 ± 1.54	1.02 ± 0.04	62.25 ± 51.32
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	34.18 ± 6.75	66.46 ± 14.29	32.26 ± 7.56	1.07 ± 0.07	49.60 ± 14.21
项目 Project		碱性磷酸酶(U/L)	肌酐(μmol/L)	尿素(mmol/L)	尿酸比(%)	葡萄糖(mmol/L)
		ALP(U/L)	Cre(μmol/L)	Urea(mmol/L)	U/C(%)	GLU(mmol/L)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	345.00 ± 129.47	31.58 ± 7.61	7.05 ± 0.72	246.37 ± 52.76	5.13 ± 0.63
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 5)	342.00 ± 68.61	28.68 ± 11.38	6.68 ± 0.86	265.66 ± 109.23	5.15 ± 1.50
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	303.00 ± 88.42	35.13 ± 12.15	6.79 ± 0.86	223.16 ± 129.47	5.65 ± 0.97
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	220.20 ± 72.50	31.40 ± 17.80	6.32 ± 1.31	231.25 ± 78.32	6.29 ± 2.39
项目 Project		天门冬氨酸氨基 转移酶(U/L)	总胆汁酸 (μmol/L)	淀粉酶 (U/L)	脂肪酶 (U/L)	乳酸脱氢酶 (U/L)
		AST(U/L)	TBA(μmol/L)	AMY(U/L)	LPS(U/L)	LDH(U/L)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	165.75 ± 68.65	19.77 ± 10.25	1449.16 ± 59.71	17.00 ± 2.94	363.50 ± 84.15
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 5)	186.50 ± 26.16	19.00 ± 2.64	1846.67 ± 157.80	17.33 ± 0.58	1235.33 ± 631.62
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	136.17 ± 28.56	16.44 ± 11.06	1211.67 ± 113.03	21.83 ± 14.32	539.00 ± 249.38
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	129.00 ± 10.68	14.04 ± 4.82	1212.25 ± 337.21	16.75 ± 0.50	526.50 ± 97.87
项目 Project		肌酸激酶(U/L)	尿酸(μmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	总CO ₂ (mmol/L)
		CK(U/L)	UA(μmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	Toll CO ₂ (mmol/L)
雄性(♂)	SSR(<i>n</i> = 4)	1733.00 ± 1571.86	39.50 ± 18.28	2.80 ± 0.98	1.07 ± 0.57	25.08 ± 1.84
Males(♂)	WT(<i>n</i> = 5)	1851.33 ± 464.10	85.33 ± 39.72	2.97 ± 0.19	2.90 ± 0.26	27.90 ± 1.57
雌性(♀)	SSR(<i>n</i> = 8)	2312.83 ± 772.26	60.67 ± 23.41	2.61 ± 0.48	1.10 ± 0.47	25.63 ± 1.77
Female(♀)	WT(<i>n</i> = 5)	2645.00 ± 657.18	36.00 ± 20.30	2.49 ± 0.86	0.95 ± 0.36	22.83 ± 6.02

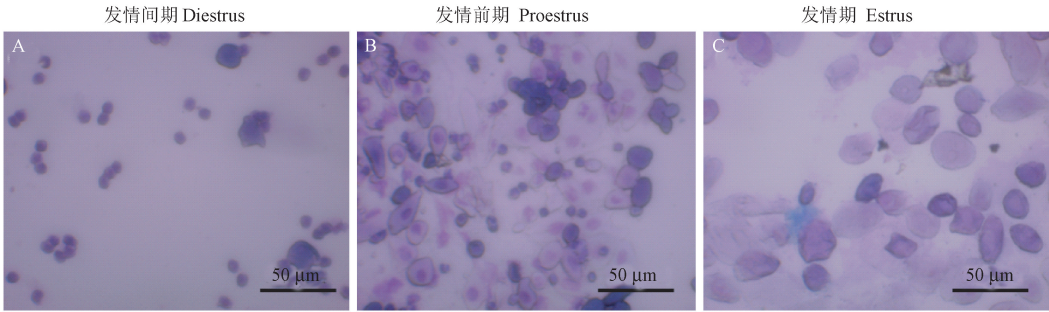


图 3 成年 SSR 阴道涂片
Figure 3 Adult SSR vaginal smear

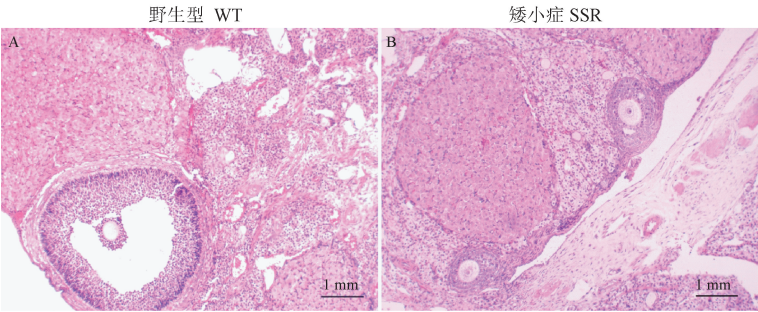


图 4 成年雌性 SSR 与野生型大鼠卵巢病理切片
Figure 4 Adult female SSR ovarian pathology section

匀称型身材缩小,软骨发育未见异常,但雌性突变个体伴发排卵障碍性不孕,因此无法通过自然交配得到隐性纯合突变个体,家系的创建只能利用杂合子进行保种和传代。SSR 可作为生长发育及生殖功能研究的新的动物模型,但其确切的致病基因及分子病理机制还需要进一步深入的研究。同时,SSR 雌性突变个体的生殖功能表型特征也需要进一步系统准确的鉴定。

矮小症通常可根据不同类型骨骼发育异常归类为短肢型、短躯干型和匀称型 3 类^[23]。软骨发育不全、假性软骨发育不全、软骨外胚层发育不良以及多发性骨骺发育不良均导致长骨发育不良,呈现为短肢型矮小症;粘多糖病Ⅳ型为严重的短躯干型矮小症;而许多病因不明的特发性矮小症则属于匀称型。这种分类方法有助于矮小症的病因诊断。由于大小鼠本身个体体尺很小,不易直观判定其矮小症类型。本研究借鉴大型经济类动物牛的体长指数(体长/体高×100)和肢长指数(胸肢长/体高×100)来鉴定 SSR 体型的匀称性和长骨发育情况。由于大鼠体高无法准确界定和测量,因此我们以“胫骨长/体长×100%”定义为胫骨长指数,将“股骨长/体长×100%”定义为股骨长指数分别来

判定胫骨及股骨的发育情况,结果表明,同年龄段 SSR 与野生型大鼠相比,胫骨长指数与股骨长指数无显著性差异,由此将 SSR 判定为匀称型矮小症。是否能将胫骨长指数与股骨长指数作为大小鼠矮小症表型分类的一个通用的科学指标,可能还需要在更多类型矮小症动物模型中进行验证和进一步探讨。

参 考 文 献(References)

[1] Yuan Y, Zhou B, Wang K, et al. Identification of contributing predictors for short stature and pre-shortness among 7310 Chinese preschool-aged children [J]. Endocrine, 2021, 71 (2): 443-452.

[2] Tanaka M, Watanabe M, Yokomi I, et al. Establishment of a novel dwarf rat strain: cartilage calcification insufficient (CCI) rats [J]. Exp Anim, 2015, 64(2): 121-128.

[3] Yoshida CA, Kawane T, Moriishi T, et al. Overexpression of Galnt3 in chondrocytes resulted in dwarfism due to the increase of mucin-type O-glycans and reduction of glycosaminoglycans [J]. J Biol Chem, 2014, 289(38:) 26584-26596.

[4] Liu Z, Mohan S, Yakar S. Does the GH/IGF-I axis contribute to skeletal sexual dimorphism? Evidence from mouse studies [J]. Growth Horm IGF Res, 2016, 27: 7-17.

[5] Yang J, Yi N, Zhang J, et al. Generation and characterization of a hypothyroidism rat model with truncated thyroid stimulating hormone receptor [J]. Sci Rep, 2018, 8: 4004.

- [6] Dauber A, Rosenfeld RG, Hirschhorn JN. Genetic evaluation of short stature [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(9): 3080–3092.
- [7] van Buul S, Van den Brande J. The Snell-dwarfmouse. I. General growth pattern, before and during growth hormone and thyroxine therapy [J]. Acta Endocrinol (Copenh), 1978, 89(4): 632–645.
- [8] Sornson MW, Wu W, Dasen JS, et al. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism [J]. Nature, 1996, 384(6607): 327–333.
- [9] Takeuchi T, Suzuki H, Sakurai S, et al. Molecular mechanism of growth hormone (GH) deficiency in the spontaneous dwarf rat; detection of abnormal splicing of GH messenger ribonucleic acid by the polymerase chain reaction [J]. Endocrinology, 1990, 126(1): 31–38.
- [10] Jansson JO, Downs TR, Beamer WC, et al. Receptor-associated resistance to growth hormone-releasing factor in dwarf little mice [J]. Science, 1986, 232(4749): 511–512.
- [11] Kelly JM, Bianchi MT. Mammalian sleep genetics [J]. Neurogenetics, 2012, 13(4): 287–326.
- [12] Andersen ML, Lee KS, Guindalini C, et al. Altered sleep patterns and physiologic characteristics in spontaneous dwarf rats [J]. Comp Med, 2009, 59(4): 344–349.
- [13] Basu A, McFarlane HG, Kopchick JJ. Spatial learning and memory in male mice with altered growth hormone action [J]. Horm Behav, 2017, 93: 18–30.
- [14] Leiser SF, Miller RA. Nrf2 signaling, a mechanism for cellular stress resistance in long-lived mice [J]. Mol Cell Biol, 2010, 30(3): 871–884.
- [15] Darcy J, McFadden S, Fang Y, et al. Increased environmental temperature normalizes energy metabolism outputs between normal and Ames dwarf mice [J]. Aging, 2018, 10(10): 2709–2722.
- [16] Alderman JM, Flurkey K, Brooks NL, et al. Neuroendocrine inhibition of glucose production and resistance to cancer in dwarf mice [J]. Exp Gerontol, 2009, 44(1–2): 26–33.
- [17] Lann D, LeRoith D. The role of endocrine insulin-like growth factor-I and insulin in breast cancer [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4): 371–379.
- [18] Steuerman R, Shevah O, Laron Z. Congenital IGF1 deficiency tends to confer protection against post-natal development of malignancies [J]. Eur J Endocrinol, 2011, 164(4): 485–489.
- [19] 陈芷沅. 突变体——侏儒小鼠 [J]. 遗传, 1986, 8: 24.
- [20] 姚菊芳, 华征宇, 王斌, 等. 近交系侏儒大鼠的培育及其主要生物学特性测定 [J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(4): 295–300, 306.
- Yao JF, Hua ZY, Wang B, et al. Breeding of inbred dwarf rats and its main biological characteristics [J]. Lab Anim Comp Med, 2016, 36(4): 295–300, 306.
- [21] Cui D, Li F, Li Q, et al. Generation of a miniature pig disease model for human Laron syndrome [J]. Sci Rep, 2015, 5: 15603.
- [22] Yu H, Long W, Zhang X, et al. Generation of GHR-modified pigs as Laron syndrome models via a dual-sgRNAs/Cas9 system and somatic cell nuclear transfer [J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 41.
- [23] 曹来宾. 侏儒的 X 线分析(二) [J]. 实用放射学杂志, 1989(2): 97–98.
- Cao LB. X-ray analysis of dwarf(II) [J]. J Pract Radiol, 1989(2): 97–98.

[收稿日期] 2022-05-16