

豫医无毛小鼠分离近交系 T 细胞亚群 和 sIL-2R 水平*

康巧珍^① 章金涛^② 杜春燕^② 杜献堂^③

(^①郑州大学生物工程系 郑州 450052; ^②郑州大学河南省实验动物中心 郑州 450052;

^③郑州大学医学院微生物与免疫教研室 郑州 450052)

摘要: 为研究豫医无毛小鼠分离近交系细胞免疫功能,采用单抗致敏的红细胞花环法和双抗夹心 ELISA 法分别对 2 月龄、6 月龄无毛小鼠及杂合子有毛小鼠 T 淋巴细胞亚群及可溶性白介素-2 受体(sIL-2R)水平进行体外测定,结果表明,2 月龄组无毛小鼠 CD₃、CD₄、CD₈ 阳性 T 细胞及 CD₄/CD₈ 与有毛小鼠相比无显著性差异,sIL-2R 水平无毛小鼠高于有毛小鼠,差异显著($P < 0.05$);6 月龄组无毛小鼠与有毛小鼠相比,CD₄ 无显著性差异,CD₃、CD₄/CD₈ 高于有毛小鼠,CD₈、sIL-2R 低于有毛小鼠,差异显著($P < 0.05$)。提示了豫医无毛小鼠分离近交系两种基因型小鼠细胞免疫功能有一定差异。

关键词: 无毛小鼠;分离近交系;T 细胞亚群;sIL-2R

中图分类号:Q319 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2002)04-18-03

T-lymphocyte Subsets and sIL-2R Level in Segregating Inbred Strain of Yuyi Hairless Mouse

KANG Qiao-Zhen ZHANG Jin-Tao DU Chun-Yan DU Xian-Tang

(Zhengzhou University Zhengzhou 450052, China)

Abstract: The immune function of T-lymphocytes of two different genotype mice of segregating inbred

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39970119);

第一作者介绍 康巧珍,女,36岁,学士,副教授;研究方向:实验动物遗传与免疫。

收稿日期:2001-07-02,修回日期:2002-01-20

strains was investigated by using monoclonal antibody sensitization roset test and BsAb sandwich ELISA *in vitro*. The results showed that there was no significant difference between hairless mice and heterozygous mice with hair in T-lymphocyte subsets in the 2-month group. The level of sIL-2R in hairless mouse was significantly higher than that of heterozygous group. In the 6-month group, CD₃、CD₄/CD₈ of hairless group were significantly higher, but CD₈ and sIL-2R were significantly lower than in heterozygous group ($P < 0.05$). The data suggest that there is difference in the cellular immunity status between the two groups.

Key words: Hairless mouse; Segregating inbred strains; T-lymphocyte subsets; sIL-2R

豫医无毛小鼠来源于郑州大学医学院实验动物中心(河南省实验动物中心),是在昆明种实验小鼠繁殖群中发现的,研究证实为常染色体隐性基因发生突变的小鼠。1996年在上海由实验动物专家组成的论证会上被命名为豫医无毛小鼠(Yuyi Hairless mouse)。近交系培育采用雌性杂合子有毛小鼠与雄性纯合子无毛小鼠同胞兄妹交配繁殖^[1]。该品系纯合子突变鼠表现无毛,胸腺萎缩较早,在6月龄时仅为有毛小鼠的一半,平均寿命为一年,较正常小鼠短,老龄鼠在头体两侧形成特别皱纹和褶皱,雌性个体繁殖率低、哺乳能力差^[2]。无毛小鼠与裸小鼠(nude mouse)不同,具有胸腺,能在普通环境中饲养繁殖,是进行皮肤病理、皮肤肿瘤、皮肤老化、脱发、老年病学研究以及化妆品和外用药品检定等的珍贵实验材料^[3]。为了研究无毛小鼠的突变机制及其生物学特性,作者采用强迫杂合性兄妹交配法对突变小鼠进行了近交培育。本实验选用第29代分离近交系无毛小鼠,分别对2月龄和6月龄两个年龄组中两种不同基因型小鼠的T淋巴细胞亚群及sIL-2R水平进行比较研究,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 豫医无毛小鼠分离近交系由郑州大学医学院(原河南医科大学)实验动物中心培育,选用第29代杂合子有毛小鼠和纯合子无毛小鼠2月龄、6月龄两个年龄组各20只(雌雄各半),分成4组进行测定。

1.2 检测试剂 CD₃、CD₄、CD₈单克隆抗体致敏的直接法红细胞花环试剂盒(武汉生物制品研究所免疫学研究室);sIL-2R试剂盒(白求恩医科大学免疫室);BSA(小牛血清白蛋白,B.M分装);OPD(邻苯二胺,Sigma分装)。

1.3 实验方法 T淋巴细胞亚群的测定:取待检小鼠脾淋巴细胞调成 5×10^6 浓度,采用CD₃、CD₄、CD₈单克隆抗体致敏的直接法红细胞花环法进行检测。sIL-2R水平测定:小鼠眼眶取血,分离血清,采用双抗夹心ELISA法,用酶联免疫检测仪,以490nm比色测定OD值,对照标准曲线,查出血清中sIL-2R含量。两组数据间比较采用t-检验。

2 实验结果

表1 两种基因型小鼠脾脏T淋巴细胞亚群比较

T细胞亚群	2月龄组		6月龄组	
	无毛小鼠	有毛小鼠	无毛小鼠	有毛小鼠
CD ₃ (%)	66.2 ± 4.65	65.0 ± 2.23	65.1 ± 2.85	60.5 ± 2.59*
CD ₄ (%)	40.6 ± 2.97	42.0 ± 4.18	40.8 ± 2.78	38.7 ± 3.47
CD ₈ (%)	22.0 ± 4.50	24.4 ± 3.36	23.0 ± 1.70	25.7 ± 2.71*
CD ₄ /CD ₈	1.84 ± 0.22	1.73 ± 0.13	1.77 ± 0.09	1.49 ± 0.07*

* 无毛小鼠与有毛小鼠比较 $P < 0.05$

表 2 血清中可溶性白介素-2 受体 (sIL-2R) 水平的变化

组别	无毛小鼠 sIL-2 (U/ml)	有毛小鼠 sIL-2R (U/ml)
2 月龄	71.4 ± 7.41	63.4 ± 4.2*
6 月龄	79.0 ± 7.37	134.0 ± 40.33*

* 无毛小鼠与有毛小鼠相比较 $P < 0.05$

表 1 结果显示, 2 月龄组分离近交系无毛小鼠与杂合子有毛小鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群无显著性差异, 6 月龄组无毛小鼠与有毛小鼠 CD_4^+ T 淋巴细胞无显著性差异, CD_3 , CD_4/CD_8 高于有毛小鼠, CD_8 低于有毛小鼠, 差异显著 ($P < 0.05$)。表 2 结果显示, 2 月龄组无毛小鼠血清 sIL-2R 水平高于有毛小鼠, 6 月龄组无毛小鼠血清 sIL-2R 水平低于有毛小鼠, 两组均有显著性差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

据文献报道, T 淋巴细胞亚群变化可反应机体的细胞免疫状态, 而血清中可溶性白介素-2 受体 (sIL-2R) 水平与许多免疫疾病的病情变化或预后密切相关^[4,5]。在检测 T 淋巴细胞亚群的同时, 检测血清 sIL-2R 水平, 能够从正反两方面较好地反映机体细胞免疫状态。而动态观察有助于了解机体免疫机能的发育成熟情况。作者发现的突变体无毛小鼠由于突变基因对雌性动物的生殖有不良影响, 为培育包含无毛突变基因的近交品系, 采用了强迫杂合性全同胞兄妹交配法, 建立了包含无毛小鼠和杂合子有毛小鼠的分离近交系, 研究发现, 分离近交系中无毛小鼠与杂合子有毛小鼠在 2 月龄时胸腺发育达到最高, 而 6 月龄时无毛小鼠胸腺萎缩较有毛小鼠明显, 无毛小鼠寿命较有毛小鼠

大大缩短。为比较分离近交系中这两种基因型小鼠的细胞免疫功能, 作者进行了以上测定, 结果发现 2 月龄时两种基因型小鼠 sIL-2R 水平有显著性差异, 6 月龄时 sIL-2R, CD_3 , CD_8 、 CD_4/CD_8 均有显著性差异, 提示两种基因型小鼠的某些细胞免疫功能有所不同。

6 月龄组无毛小鼠 CD_8 阳性 T 淋巴细胞低于杂合子有毛小鼠与 6 月龄后无毛小鼠胸腺的较早萎缩相呼应, CD_8 阳性 T 淋巴细胞是在胸腺发育成熟的, 已有文献报道证实 CD_8 阳性 T 淋巴细胞是有寿命的, 无毛小鼠胸腺是影响 CD_8 阳性 T 淋巴细胞再生的可能因素。近年来免疫与衰老越来越受人关注, 免疫功能的失调应当是疾病和衰老的重要原因, 豫医无毛小鼠由于基因突变和定向培育, 细胞免疫功能发生了一定的改变, 可能与无毛小鼠寿命短、皮肤及附性器官(毛发、乳腺)老化及生殖力降低有关, 有望培育成先天性衰老模型。

参 考 文 献

- [1] 康巧珍, 章金涛, 凌雁等. 无毛小鼠分离近交系的培育. 中国实验动物学杂志, 2000, 10(1): 43 ~ 45.
- [2] 章金涛, 王纯耀, 祝庆蕃等. 昆明种小鼠无毛突变系的建立及生物学特性研究. 中国实验动物学杂志, 1995, 5(4): 233 ~ 234.
- [3] 徐宏彬. 无毛小鼠及其在皮肤病学研究中的应用. 上海实验动物科学, 1993, 13(2): 18 ~ 19.
- [4] Lee W J, Chang K J, Lee C S *et al.* Select depression of T-lymphocyte subsets in gastric cancer patients: an implication of immunotherapy. *J Surg Oncol*, 1994, 55(3): 165.
- [5] Zeng Z C, Tang Z Y, Liu K D *et al.* Observation of changes in peripheral T-lymphocyte subsets by flow cytometry in patients with liver cancer treated with radioimmunotherapy. *Nuc Med Commun*, 1995, 16(5): 378.