

FMR1 基因敲除对 C57BL/6 小鼠 部分生物学特性的影响

杨燕燕 俞春英 周建华 王训立*

福建中医药大学实验动物中心 福州 350122

摘要: 为探讨脆性 X 智力障碍 1 (*FMR1*) 基因敲除对 C57BL/6 小鼠 (*Mus musculus domesticus*) 部分生物学特性的影响, 使用全自动动物血细胞分析仪和全自动生化仪分别检测 8~10 周龄的 *FMR1* 基因敲除小鼠 (C57BL/6 *FMR1* KO) 及同源背景 C57BL/6 小鼠的血液生理生化指标、电解质等, 并进行统计学分析。C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠与野生型 C57BL/6 小鼠比较, 血液生理指标中雌性及雄性组间的中性粒细胞计数 (MEUT#)、中性粒细胞百分比 (MEUT) 和淋巴细胞百分比 (LY) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 雄性组间的红细胞总数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞压积 (HCT) 和平均血红蛋白浓度 (MCHC) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 雌性组间的白细胞 (WBC)、淋巴细胞计数 (LY#) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 而非性别因素影响两类小鼠组间的红细胞总数 (RBC)、红细胞压积 (HCT)、中性粒细胞计数 (MEUT#)、中性粒细胞百分比 (MEUT) 和淋巴细胞百分比 (LY) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 血清生化指标中雄性组间的谷草转氨酶/谷丙转氨酶 (AS/AL) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 雌性组间的肌酐 CR、肌酸磷酸激酶 CK 和钙离子浓度 Ca^{2+} 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 而非性别因素影响两类小鼠组间的谷草转氨酶/谷丙转氨酶 (AS/AL)、肌酐 CR 和肌酸磷酸激酶 CK 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 其他各项指标差异不显著 ($P > 0.05$)。研究表明, *FMR1* 基因敲除可影响小鼠的部分生理生化指标水平, 这为今后研究和应用 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠模型提供了实验依据。

关键词: 基因敲除; 脆性 X 智力障碍 1 (*FMR1*) 基因; C57BL/6 小鼠; 血液理化指标

中图分类号: Q784 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 06-1010-08

The Influence of *FMR1* Gene Knockout on Some Biological Characteristics of C57BL/6 Mice

YANG Yan-Yan YU Chun-Ying ZHOU Jian-Hua WANG Xun-Li*

Laboratory Animal Center of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China

Abstract: This study aims to explore the influence of fragile X retardation 1 (*FMR1*) gene knockout on biological characteristics of C57BL/6 (*Mus musculus domesticus*) mice. Blood physiological and biochemical

基金项目 福建省实验动物研究重点项目 (No. 2014Y0079);

* 通讯作者, E-mail: wxl@fjtc.edu.cn;

第一作者介绍 杨燕燕, 女, 助理研究员; 研究方向: 实验动物学、分子免疫学; E-mail: yanfjtc@163.com。

收稿日期: 2015-12-14, 修回日期: 2016-04-06 DOI: 10.13859/j.cjz.201606009

indexes of *FMR1* knockout mice and C57BL/6 mice of 8 - 10 weeks old were respectively examined using animal automatic blood cell analyzer and automatic biochemical detection. The comparison of difference between groups was analyzed with independent-samples T test method using SPSS 19.0. The blood routine indexes of C57BL/6 *FMR1* KO male and female mice, such as neutrophilic granulocyte (MEUT#), neutrophilic granulocyte percentage (MEUT) and lymphocyte percentage (LY), had significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$); for males, the number of red blood cells (RBC), hamoglobin (HGB), hematocrit value (HCT) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) showed significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$); for females, the number of white blood cells (WBC) and lymphocytes (LY#) showed significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$); the non-sex factors including red blood cells (RBC), hematocrit value (HCT), neutrophilic granulocytes (MEUT#), neutrophilic granulocyte percentage (MEUT) and lymphocyte percentage (LY) showed significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$). But there was no significant difference in the number of platelets (PLT), mean platelet volume (MPV), plateletcrit (PCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), red blood cell distribution width-standard deviation (RDW-SD), red blood cell distribution width-coefficient of variance (RDW-CV), platelet distribution width (PDW), platelet-large cell rate (P-LCR), monocytes (MONO #), monocytes percentage (MONO), eosnophils (EO#), eosnophils percentage (EO), basophilic granulocytes (BASO#) and basophilic granulocyte percentage (BASO) between C57BL/6 *FMR1* KO mice and C57BL/6 mice ($P > 0.05$) (Table 1). Serum biochemical indexes of C57BL/6 *FMR1* KO mice, such as the AST/ALT (AS/AL) in males had significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$); the creatinine (CR), creatine phosphokinase (CK) and electrolyte Ca^{2+} in females had significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$); the non-sex factors including AST/ALT (AS/AL), creatinine (CR) and creatine phosphokinase (CK) had significant difference compared to C57BL/6 mice ($P < 0.05$). No significant difference was found in albumin (ALB), globulin (GLB), ALB/GLB (A/G), alkaline phosphatase (ALP), glutamyltransferase (GGT), total protein (TPROT), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), uric acid (UA), cholesterol (CHO), triglyceride (TG), glucose (GLU), lactic dehydrogenase (LDH), osmotic pressure, K^+ , Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} and P^{3+} ($P > 0.05$) (Table 2). Thus, the results suggest that *FMR1* gene knockout can influence some blood physiological and serum biochemical values in mice. These results will provide the experimental basis for researching and using C57BL/6 *FMR1* KO mouse model in the future.

Key word: Gene knockout; Fragile X retardation 1 gene (*FMR1*); C57BL/6 mice; Physiological and biochemical indexes

FMR1 基因敲除小鼠 (*Mus musculus domesticus*) 是利用基因敲除技术将正常 C57BL/6 小鼠的 *FMR1* 基因定点灭活, 制备成人类脆性 X 综合征 (fragile X chromosome syndrome, FraX) 的动物模型 (黄昀等 2001, Miyashiro et al. 2003, Meredith et al. 2007, McNaughton et al. 2008)。目前对于该小鼠的

研究主要集中于动物疾病模型中的应用以及所敲除基因在机体中的各种功能。与传统的实验小鼠相比, 经过遗传修饰的小鼠在维持性状方面有差异。为了避免遗传变异和遗传漂变的发生而导致某些有用性状的丢失, 维持模型动物品系在科学研究中的应有价值, 有必要开展 C57BL/6 *FMR1* 基因敲除小鼠和其背景野生型

C57BL/6 (WT C57BL/6) 小鼠血液生理生化等部分生物学特性的对比研究, 以此提供具有遗传性质稳定的科学研究用基因修饰实验动物模型, 并为进一步的研究提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物

FMR1 基因敲除 C57BL/6 纯系小鼠 (C57BL/6 *FMR1* KO) 由美国 Baylor 医学院 Dr. David Nelson 赠送, 雌、雄各 1 只。其子代基因敲除纯合子小鼠于福建中医药大学实验动物中心[许可证号 SYXK (闽) 2014-0005]繁育而得。同源 WT C57BL/6 小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号 SCXK (沪) 2012-0002]。选取 8 ~ 10 周龄 C57BL/6 *FMR1* KO 和 WT C57BL/6 小鼠各 20 只, 雌、雄各半。

1.2 实验动物的饲养环境

小鼠于屏障系统 (specific pathogen free, SPF) 动物实验室中饲养与繁殖, 所有操作均符合福建中医药大学实验动物中心实验动物管理条例及动物福利原则。屏障环境内温度 20 ~ 26℃, 空气相对湿度 40% ~ 70%, 噪音 < 60 dB, 光周期 12 L : 12 D。小鼠笼盒、饲料和垫料等均经高温高压灭菌处理后使用, 饮用纯净水, 自由采食。饲养过程中密切观察小鼠的生长情况, 垫料一周更换两次, 饲料和水每日补充 (汤家铭 2003)。

1.3 *FMR1* 基因敲除小鼠的基因型鉴定

本实验中的 C57BL/6 *FMR1* KO 子代小鼠通过 PCR 鉴定基因型方法检测筛选。其中, 引物 M2 和 N2 扩增片段约 800 bp, 用于检测 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠 *FMR1* 中包含新霉素插入片段的等位基因片段; 引物 S1 和 S2 扩增片段约 468 bp, 用于检测 WT C57BL/6 小鼠的 *FMR1* 等位基因片段。引物设计针对基因敲除的编码序列, DNA 提取、PCR 反应体系及 1.5% 琼脂糖凝胶电泳按已建立的方式进行 (谢金东等 2015)。

1.4 小鼠血液生理生化指标测定

空腹 12 h 后, 使用内径 0.9 ~ 1.1 mm 的无菌抗凝玻璃毛细管经小鼠眼内眦静脉取血 100 ~ 150 μ l, 装入 EDTA 抗凝管内。采用 Sysmex XT-2000iV 全自动五分类动物血液分析仪检测血液生理指标。空腹 12 h 后, 采用摘除眼球法各取血 0.8 ml/只, (24 $\pm$ 2)℃ 室温静置 2 h 后, 3 000 r/min 离心 5 min, 分离血清。采用日立 7180 全自动生化分析仪检测血清生化指标。

1.5 数据处理

应用 SPSS 19.0 软件处理, 实验所得数据以平均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示, 用 *t* 检验对结果进行品系间的分析比较。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 *FMR1* 基因敲除小鼠基因型鉴定

PCR 鉴定结果显示, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠在约 800 bp 处出现特异性条带 (图 1)。由于 *FMR1* 基因敲除小鼠在 *FMR1* 基因第 5 个外显子中插入一个新霉素片段, 从而阻断了 468 bp DNA 片段的扩增, 证实人类脆性 X 综合征 (FraX) 小鼠模型 *FMR1* 基因缺陷。

2.2 *FMR1* 基因敲除小鼠和野生型 C57BL/6 小鼠的血液学指标比较

2.2.1 两类小鼠雌性组及雄性组的血液学指标比较 本实验共测定了 24 项血液生理指标 (表 1)。经 *t* 检验, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠与 WT C57BL/6 小鼠相比较, 雌性及雄性组间的中性粒细胞计数 (MEUT#)、中性粒细胞百分比 (MEUT) 和淋巴细胞百分比 (LY) 均存在显著性差异 ($P < 0.05$); 雄性组间的红细胞总数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞压积 (HCT) 和平均血红蛋白浓度 (MCHC) 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 雌性组间的白细胞 (WBC)、淋巴细胞计数 (LY#) 存在显著性差异 ($P < 0.05$)。其他各项指标差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2.2 两类小鼠 (雌、雄各半) 组间的血液学指标比较 本实验共测定了 24 项血液生理指

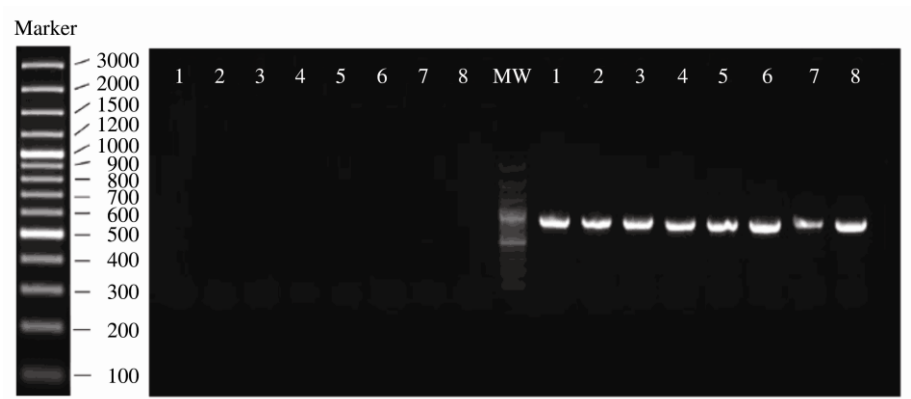


图 1 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠 PCR 基因鉴定结果

Fig. 1 PCR gene identification results of C57BL/6 *FMR1* KO mice

检测 1~8 号样本, Marker 为 DNA 分子量标准; MW 为 Marker 分子量; MW 左侧引物为 S1/S2 扩增产物, MW 右侧引物为 M2/N2 扩增产物。

The test samples were from one to eight, the primer on the left side of molecular weight (MW) was S1 / S2, and the primer on the right side of MW was M2 / N2.

标(表 1)。经 *t* 检验, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠与 WT C57BL/6 小鼠(雌、雄各半)比较, 两类小鼠组间的红细胞总数(RBC)、红细胞压积(HCT)、中性粒细胞计数(MEUT#)、中性粒细胞百分比(MEUT)和淋巴细胞百分比(LY)存在显著性差异($P < 0.05$); 其他各项指标差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 *FMR1* 基因敲除小鼠和野生型 C57BL/6 小鼠的血清生化值比较

2.3.1 两类小鼠雌性组及雄性组的的血清生化值比较 两组小鼠血清生化指标和血清电解质共测定了 24 项(表 2)。经 *t* 检验, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠与 WT C57BL/6 小鼠比较, 雄性组间的谷草转氨酶/谷丙转氨酶(AS/AL)存在显著性差异($P < 0.05$); 雌性组间的肌酐 CR、肌酸磷酸激酶 CK 和钙离子浓度 Ca^{2+} 存在显著性差异($P < 0.05$); 其他各项指标差异不显著($P > 0.05$)。

2.3.2 两类小鼠(雌、雄各半)组间的血清生化值比较 两组小鼠血清生化指标和血清电解质共测定了 24 项(表 2)。经 *t* 检验, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠与 WT C57BL/6 小鼠(雌、雄各半)比较, 两类小鼠组间的谷草转氨酶/谷丙转

氨酶(AS/AL)、肌酐 CR 和肌酸磷酸激酶 CK 存在显著性差异($P < 0.05$); 其他各项指标差异不显著($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 脆性 X 综合症与 *FMR1* 基因敲除小鼠的研究

人类脆性 X 综合症(FraX)是一种 X 连锁不完全显性遗传病, 也是最常见的遗传性智力低下性疾病之一, 发病率仅次于遗传性先天性智力低下综合症(徐振华等 2007), 在人群中该病的发病率男性约 1/1 500, 女性约 1/2 500。该病是由 X 染色体上脆性 X 智力低下的 1 号基因缺陷引起 *FMR1* 蛋白(fragile X mental retardation-1 protein, FMRP)合成减少所致(Warren 2007)。*FMR1* 是定位于 X 染色体上的高度保守基因, 在神经系统发育过程中起重要的调节作用, 其编码产物 FMRP 作为一种 mRNA 结合蛋白, 在许多组织中都有表达, 主要位于神经细胞和精原细胞, 大脑和睾丸有较高表达, 在生物体的中枢神经系统和生殖系统发育过程中起着重要作用。

鼠类的 FMRP 同系物与人类的 FMRP 在结

表 1 8~10 周龄 C57BL/6 FMR1 KO 小鼠和 C57BL/6 小鼠血液生理测定值比较
Table 1 Blood physiological values of FMR1 knockout mice and C57BL/6 mice

项目 Item	雌性 Female (n = 5)		雄性 Male (n = 5)		雌性 Female and male (n = 10)	
	C57BL/6 FMR1 KO	WT C57BL/6	C57BL/6 FMR1 KO	WT C57BL/6	C57BL/6 FMR1 KO	WT C57BL/6
白细胞总数 White blood cell (WBC) (10 ⁹ /L)	4.43 ± 0.44	5.39 ± 0.38*	7.93 ± 1.28	7.82 ± 1.54	6.18 ± 2.00	6.61 ± 1.49
红细胞总数 Red blood cell (RBC) (10 ¹² /L)	9.80 ± 0.72	10.58 ± 0.21	9.31 ± 0.21	10.96 ± 0.07**	9.55 ± 0.58	10.77 ± 0.25**
血红蛋白 Hemoglobin (HGB) (g/L)	165.26 ± 48.69	152.00 ± 2.53	131.20 ± 4.21	153.20 ± 1.17**	148.23 ± 38.52	152.60 ± 2.06
红细胞压积 Hematocrit value (HCT) (%)	47.16 ± 3.26	49.86 ± 0.74	43.94 ± 1.34	50.86 ± 0.53**	45.55 ± 2.97	50.36 ± 0.81**
血小板计数 Platelet (PLT) (10 ⁹ /L)	954.80 ± 430.57	1 284.20 ± 126.26	1 785.90 ± 157.62	1 652.90 ± 99.98	1 370.33 ± 527.05	1 468.53 ± 94.86
平均血小板体积 Mean platelet volume (MPV) (fL)	6.98 ± 0.10	6.88 ± 0.21	6.84 ± 0.21	6.72 ± 0.20	6.91 ± 0.18	6.80 ± 0.22
血小板比积 Plateletcrit (PCT) (%)	0.67 ± 0.31	0.88 ± 0.08	1.23 ± 0.14	1.11 ± 0.24	0.95 ± 0.37	1.00 ± 0.21
平均红细胞体积 Mean corpuscular volume (MCV) (fL)	48.20 ± 1.81	47.14 ± 0.71	47.18 ± 0.88	46.44 ± 0.44	47.69 ± 1.51	46.79 ± 0.68
平均红细胞血红蛋白 Mean corpuscular hemoglobin (MCH) (pg)	16.74 ± 4.10	14.38 ± 0.20	14.10 ± 0.33	13.98 ± 0.13	15.42 ± 3.20	14.18 ± 0.26
平均血红蛋白浓度 Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) (g/L)	348.00 ± 88.55	305.00 ± 2.28	298.60 ± 1.20	301.20 ± 1.72*	323.30 ± 67.31	303.10 ± 2.77
红细胞分布宽度标准差 Red blood cell distribution width-standard deviation (RDW-SD) (fL)	30.10 ± 5.35	31.22 ± 3.92	30.88 ± 1.64	29.32 ± 0.54	30.49 ± 3.98	30.27 ± 2.95
红细胞分布宽度变异系数 Red blood cell distribution width-coefficient of variance (RDW-CV) (%)	19.18 ± 2.16	21.16 ± 1.80	20.58 ± 1.09	20.76 ± 0.31	19.88 ± 1.85	20.96 ± 1.31
血小板分布宽度 Platelet distribution width (PDW) (%)	7.60 ± 0.27	7.88 ± 0.36	7.54 ± 0.28	7.56 ± 0.34	7.57 ± 0.28	7.72 ± 0.38
大型血小板比率 Platelet-large cell rate (P-LCR) (%)	6.76 ± 0.57	5.74 ± 1.05	5.54 ± 0.98	4.92 ± 0.96	6.15 ± 1.00	5.33 ± 1.09
中性粒细胞 Neutrophilic granulocyte (MEUT#) (10 ⁹ /L)	1.86 ± 0.54	0.71 ± 0.39**	0.87 ± 0.13	0.61 ± 0.92*	1.37 ± 0.63	0.66 ± 0.30**
中性粒细胞百分比 Neutrophilic granulocyte percentage (MEUT) (%)	43.02 ± 14.51	13.00 ± 6.77**	11.16 ± 1.34	7.68 ± 0.95**	27.09 ± 18.97	10.34 ± 5.52*
淋巴细胞 Lymphocyte (LY#) (10 ⁹ /L)	2.16 ± 0.76	4.13 ± 0.48**	6.49 ± 1.11	4.70 ± 0.92	4.33 ± 2.36	5.41 ± 1.48
淋巴细胞百分比 Lymphocyte percentage (LY) (%)	47.98 ± 13.33	76.88 ± 9.39**	81.62 ± 0.87	85.72 ± 1.31**	64.80 ± 19.29	81.30 ± 8.03*
单核细胞 Monocytes (MONO#) (10 ⁹ /L)	0.32 ± 0.21	0.40 ± 0.17	0.43 ± 0.10	0.34 ± 0.05	0.37 ± 0.18	0.37 ± 0.13
单核细胞百分比 Monocytes percentage (MONO) (%)	6.86 ± 3.82	7.38 ± 2.88	5.44 ± 0.68	4.42 ± 0.56	6.15 ± 2.83	5.90 ± 2.55
嗜酸性粒细胞 Eosnophils (EO#) (10 ⁹ /L)	0.09 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.17 ± 0.07	0.12 ± 0.05	0.16 ± 0.07
嗜酸性粒细胞百分比 Eosnophils percentage (EO) (%)	2.06 ± 0.73	2.66 ± 1.00	1.78 ± 0.48	2.14 ± 0.79	1.92 ± 0.63	2.40 ± 0.94
嗜碱性粒细胞 Basophilic granulocyte (BASO#) (10 ⁹ /L)	0.40 ± 0.50	0.40 ± 0.50	0 ± 0	0.40 ± 0.50	0.20 ± 0.40	0.40 ± 0.50
嗜碱性粒细胞百分比 Basophilic granulocyte percentage (BASO) (%)	0.08 ± 0.10	0.08 ± 0.10	0 ± 0	0.04 ± 0.05	0.04 ± 0.08	0.06 ± 0.08

相同性别因素数据之间进行独立样本 *t* 检验, * 表示 *P* < 0.05, 差异显著; ** 表示 *P* < 0.01, 差异极显著。
The data in the same sex factors were analyzed by independent-samples *t*-test, * means *P* < 0.05, the difference was significant; ** means *P* < 0.01, the difference was extremely significant.

表 2 8~10 周龄 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠和 C57BL/6 小鼠血清生化和电解质参数值比较

Table 2 Serum biochemical values and electrolyte values of *FMR1* knockout mice and C57BL/6 mice

项目 Item	雌性 Female (<i>n</i> = 5)		雄性 Male (<i>n</i> = 5)		雌性 Female and male (<i>n</i> = 10)	
	C57BL/6 <i>FMR1</i> KO	WT C57BL/6	C57BL/6 <i>FMR1</i> KO	WT C57BL/6	C57BL/6 <i>FMR1</i> KO	WT C57BL/6
清蛋白 Albumin (ALB) (g/L)	35.74 ± 1.94	35.66 ± 1.04	35.00 ± 0.64	36.02 ± 0.84	35.37 ± 1.57	35.84 ± 1.01
球蛋白 Globulin (GLB) (g/L)	28.56 ± 5.29	29.10 ± 0.95	28.84 ± 0.87	29.08 ± 1.36	28.70 ± 4.00	29.09 ± 1.24
清蛋白/球蛋白 ALB/GLB (A/G)	1.28 ± 0.15	1.22 ± 0.07	1.22 ± 0.04	1.24 ± 0.05	1.25 ± 0.12	1.23 ± 0.07
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase (ALP) (U/L)	119.60 ± 8.31	118.60 ± 23.87	85.80 ± 4.12	82.00 ± 2.28	102.70 ± 19.11	100.30 ± 26.30
谷氨酰转氨酶 Glutamy/transferase (GGT) (U/L)	21.00 ± 14.21	14.60 ± 2.42	16.60 ± 4.03	18.20 ± 5.64	18.80 ± 11.25	16.40 ± 4.95
总蛋白 Total protein (TPROT) (g/L)	64.30 ± 7.19	64.76 ± 1.36	63.84 ± 1.28	65.10 ± 2.20	64.07 ± 5.45	64.93 ± 1.94
谷丙转氨酶 Alanine aminotransferase (ALT) (U/L)	90.46 ± 72.23	64.82 ± 10.75	67.34 ± 42.30	37.48 ± 8.50	78.90 ± 63.57	51.15 ± 17.66
谷草转氨酶 Aspartate aminotransferase (AST) (U/L)	186.00 ± 27.84	254.40 ± 6.85	189.82 ± 3.30	201.00 ± 57.98	187.91 ± 44.74	227.70 ± 88.72
谷草转氨酶/谷丙转氨酶 AST/ALT (AS/AL)	2.94 ± 1.34	3.90 ± 1.34	3.36 ± 1.32	5.32 ± 0.90*	3.15 ± 1.42	4.61 ± 1.42*
尿素氮 Blood urea nitrogen (BUN) (mmol/L)	10.81 ± 1.16	12.00 ± 1.99	13.98 ± 3.15	11.65 ± 1.64	12.39 ± 3.01	11.82 ± 1.93
肌酐 Creatinine (CR) (μmol/L)	22.54 ± 3.17	29.00 ± 3.08*	26.56 ± 5.42	29.00 ± 4.46	24.55 ± 5.14	29.00 ± 4.04*
尿酸 Uric acid (UA) (μmol/L)	50.00 ± 13.81	49.80 ± 16.05	45.20 ± 7.03	40.80 ± 7.91	47.60 ± 11.82	45.30 ± 14.16
总胆固醇 Cholesterol (CHO) (mmol/L)	2.62 ± 0.55	2.79 ± 0.11	2.83 ± 0.08	2.87 ± 0.11	2.72 ± 0.43	2.83 ± 0.12
甘油三酯 Triglyceride (TG) (mmol/L)	1.10 ± 0.30	1.08 ± 0.12	1.21 ± 0.22	1.30 ± 0.27	1.16 ± 0.28	1.19 ± 0.25
葡萄糖 Glucose (GLU) (mmol/L)	8.75 ± 0.81	8.65 ± 0.72	8.79 ± 0.98	8.31 ± 0.99	8.77 ± 0.78	8.48 ± 0.93
乳酸脱氢酶 Lactic dehydrogenase (LDH) (U/L)	553.38 ± 70.88	677.94 ± 62.90	642.34 ± 189.89	711.14 ± 26.15	597.86 ± 158.18	694.54 ± 154.59
肌酸磷酸激酶 Creatine phosphokinase (CK) (U/L)	286.62 ± 36.55	555.88 ± 76.88*	445.14 ± 160.25	513.72 ± 09.02	365.88 ± 148.28	534.80 ± 156.45*
渗透压 Osmotic pressure (mOSM/L)	306.00 ± 3.51	308.78 ± 2.86	314.40 ± 8.24	317.14 ± 11.70	310.05 ± 7.92	312.96 ± 10.00
钾离子浓度 Potassium (K ⁺) (mmol/L)	7.64 ± 0.85	7.68 ± 0.30	7.26 ± 0.48	7.34 ± 0.59	7.45 ± 0.75	7.51 ± 0.52
钠离子浓度 Natriumion (Na ⁺) (mmol/L)	152.10 ± 2.50	152.96 ± 1.34	154.74 ± 3.04	157.66 ± 5.60	153.42 ± 3.25	155.31 ± 4.95
氯离子浓度 Chloridion (Cl ⁻) (mmol/L)	112.62 ± 1.70	113.10 ± 2.23	112.12 ± 1.78	113.40 ± 4.96	112.37 ± 1.85	113.25 ± 4.06
钙离子浓度 Calciumion (Ca ²⁺) (mmol/L)	2.42 ± 0.06	2.54 ± 0.04*	2.56 ± 0.08	2.53 ± 0.05	2.49 ± 0.10	2.54 ± 0.05
镁离子浓度 Magnesium (Mg ²⁺) (mmol/L)	1.40 ± 0.16	1.53 ± 0.04	1.51 ± 0.15	1.52 ± 0.10	1.45 ± 0.17	1.52 ± 0.08
磷离子浓度 Phosphorus ion (P ³⁺) (mmol/L)	2.49 ± 0.78	2.74 ± 0.25	2.72 ± 0.38	2.86 ± 0.37	2.59 ± 0.67	2.80 ± 0.34

相同性别因素数据之间进行独立样本 *t* 检验, * 表示 *P* < 0.05, 差异显著。

The data in the same sex factors were analyzed by independent-samples *t*-test, * means *P* < 0.05, the difference was significant.

构上存在 97% 的相似性, 提示两者具有类似的生理功能, 这为疾病动物模型的创造提供了依据。Verkerk 等 (1991) 成功地克隆出其致病基因 *FMR1*, 该基因 5' 端的三核苷酸 (CGG) 重复序列异常扩增及其相邻部位 CpG 岛异常甲基化, 使 *FMR1* 基因转录及 (或) 翻译终止, 导致编码产物 FMRP 减少或缺失。1994 年 *FMR1* 基因敲除小鼠的出现是人类脆性 X 综合征 (FraX) 研究的一个里程碑 (Bakker et al. 1994)。Bakker 等 (1994) 在 *FMR1* 基因区插入新霉素片段, 致使该基因不能表达 FMRP 而制作出人类脆性 X 综合征 (FraX) 小鼠模型, *FMR1* KO 小鼠的许多行为学表现与人类脆性 X 综合征 (FraX) 患者非常相似, 这为此疾病的相关研究提供了一种成熟的动物模型。

3.2 部分血液生理生化参数存在差异

实验动物正常血液生理生化指标是生物医学研究中的重要参数, 反映动物的新陈代谢及生理机能状况, 是判断动物健康状态、遗传稳定性以及选择合格动物的标准 (孙靖 2005, 王洪等 2008, 赵爽等 2011)。

白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞作为免疫系统的一部分, 对机体的非特异性免疫和特异性免疫起重要作用, 帮助抵抗疾病侵袭以及屏蔽外界环境的有害物质。雌性、雄性和非性别因素组间 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的淋巴细胞百分比显著低于 C57BL/6 小鼠 ($P < 0.05$), 而中性粒细胞数量和百分比均显著高于 C57BL/6 小鼠 ($P < 0.05$); 雌性组间 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的白细胞总数、淋巴细胞数量显著低于 C57BL/6 小鼠 ($P < 0.05$)。这表明 *FMR1* 基因的敲除可以在一定程度影响小鼠的免疫功能。红细胞数量、血红蛋白的含量及相关指标可以反映小鼠的载氧能力。雄性、非性别因素组间 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的红细胞总数、红细胞压积极显著低于 C57BL/6 小鼠 ($P < 0.01$); 同时, 雄性组间 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的血红蛋白含量、平均血红蛋白浓度显著低于 C57BL/6 小鼠 ($P < 0.05$)。这表明 *FMR1*

基因的敲除可能影响动物的红细胞生成代谢及载氧能力。

此外, C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的谷草转氨酶和谷丙转氨酶比值、肌酐、肌酸磷酸激酶均低于 C57BL/6 小鼠, 并具有显著性差异 ($P < 0.05$), 且雌性组 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠的 Ca^{2+} 亦显著低于 C57BL/6 小鼠, 表明 *FMR1* 基因的敲除可能影响动物的心肌、骨骼肌、肝及肾等方面功能。

实验结果反映了基因敲除实验小鼠与其背景小鼠的生物学特性, 由于所有实验样本均在相同条件下饲养, 周龄相似, 二者最大的差别体现在遗传背景不同, 说明临床血液学及血液生化指标的特性可能会与动物品系存在相关性。*FMR1* 基因敲除影响 FMRP 的合成, FMRP 缺失引起 mRNA 翻译异常, 导致突触结构和功能发生变化, 小鼠表现易发癫痫、巨睾症、激素分泌紊乱和智力低下等异常症状。这必然使得机体内稳定、平衡的内环境失衡, 免疫系统功能降低, 造成一定的生理代谢异常, 而这些改变通过生理生化指标的差异所体现。

3.3 展望

实验动物的血液生理生化指标受遗传背景、动物品系、年龄、性别、营养代谢水平、应激等方面的影响, 也有可能受测定方法、仪器设备和样本量等因素的影响 (Mitruka et al. 1977, 王洪等 2010, 郑凤娇等 2011, 李瑞生等 2012)。而当前对于 *FMR1* 基因通过调控其表达产物 FMRP 及相应蛋白质的合成而影响生理生化指标的具体调控机理尚未明确。因此, 上述差异性指标是否完全由于 *FMR1* 基因敲除所致, 还需对该基因敲除小鼠进行有序的指标动态监测, 才能更加全面分析与验证。此外, 在分析敲除基因是否对实验动物血液系统造成影响的同时, 本研究可以为 C57BL/6 *FMR1* KO 小鼠模型提供可靠的血液学指标参考范围值。

参 考 文 献

Bakker C E, Verheij C, Willemsen R, et al. 1994. *FMR1* knockout

- mice: a model to study fragile X mental retardation. *Cell*, 78(1): 23–33.
- McNaughton C H, Moon J, Strawderman M S, et al. 2008. Evidence for social anxiety and impaired social cognition in a mouse model of fragile X syndrome. *Behavioral Neuroscience*, 122(2): 293–300.
- Meredith R M, Holmgren C D, Weidum M, et al. 2007. Increased threshold for spike-timing-dependent plasticity is caused by unreliable calcium signaling in mice lacking fragile X gene *FMR1*. *Neuron*, 54(4): 627–638.
- Mitruka B M, Rawnsley H M. 1977. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals*. New York: Masson Publication USA, Inc.
- Miyashiro K Y, Beckel-Mitchener A, Purk T P, et al. 2003. RNA cargoes associating with FMRP reveal deficits in cellular functioning in *FMR1* null mice. *Neuron*, 37(3): 417–431.
- Verkerk A J, Pieretti M, Sutcliffe J S, et al. 1991. Identification of a gene (*FMR-1*) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell*, 65(5): 905–914.
- Warren S T. 2007. The epigenetics of fragile X syndrome. *Cell Stem Cell*, 1(5): 488–489.
- 黄昀, 傅松滨. 2001. 脆性 X 综合征的分子生物学研究进展. 国外医学: 遗传学分册, 24(5): 275–278.
- 李瑞生, 李晓娟, 战大伟, 等. 2012. *PLCε* 基因敲除小鼠血液生理生化指标分析. 实验动物科学, 29(3): 1–4.
- 孙靖. 2005. 实验动物学基础. 北京: 北京科学技术出版社, 60.
- 汤家铭. 2003. 遗传工程小鼠的饲养管理和品系建立. 上海实验动物科学, 23(3): 189–192.
- 王洪, 廖力夫, 徐艺玫, 等. 2010. 灰仓鼠血液生理生化指标及脏器系数性别间比较. 实验动物与比较医学, 29(6): 375–378.
- 王洪, 张华琼, 黄麟, 等. 2008. 雌雄金黄地鼠血液生理生化指标的比较分析. 中国比较医学杂志, 18(2): 35–42.
- 谢金东, 杨燕燕, 林玮, 等. 2015. 基于子代基因型鉴定技术研究 *FMR1* 敲除对 C57BL/6 小鼠繁殖性能的影响. 中国农学通报, 31(11): 68–71.
- 徐振华, 许能贵, 易玮, 等. 2007. 针刺对大鼠脑缺血后海马突触可塑性的促进作用. 安徽中医学院学报, 26(3): 18–23.
- 赵爽, 王冬平, 刘晓, 等. 2011. 黑线仓鼠及其白化突变系血液生理生化值的测定与分析. 中国比较医学杂志, 21(7): 17–21.
- 郑凤娇, 傅泳航, 刘光泽, 等. 2011. HBV 转基因小鼠血液生理生化指标检测分析. 解放军医学杂志, 36(9): 970–972.