



KK/Upj-Ay/J 小鼠主要脏器重量和血液 生理生化指标的观察

刘 旭, 吴旭颖, 王 宇, 唐光毅, 田玉书, 吴金峰, 张文明, 杨志伟

(北京华阜康生物科技股份有限公司, 北京 102200)

【摘要】 目的 测定 KK/Upj-Ay/J 小鼠的主要脏器重量, 血液生理生化指标。方法 选取 5 周龄和 10 周龄的 KK/Upj-Ay/J 小鼠, 测定主要脏器重量和血液生理生化指标。结果 不同周龄和性别的 KK/Upj-Ay/J 小鼠部分脏器重量和血生理生化有差异性。KK/Upj-Ay/J 小鼠禁食血糖值在 10 周龄时达到 7.0mmol/L 以上。结论 周龄和性别对 KK/Upj-Ay/J 小鼠的脏器重量和血生理生化值有影响。KK/Upj-Ay/J 小鼠在 10 周龄左右空腹血糖值达到糖尿病发病水平, 是可用于 II 型糖尿病研究的自发型动物模型。

【关键词】 KK/Upj-Ay/J 小鼠; 脏器重量; 血生理生化; 血糖

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 05-0052-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.011

The study on organ weights, blood physiological and biochemical parameters of KK/Upj-Ay/J mice

LIU Xu, WU Xu-ying, WANG Yu, TANG Guang-yi, TIAN Yu-shu, WU Jin-feng, ZHANG Wen-ming, YANG Zhi-wei
(Beijing HFK Bioscience Co., LTD, Beijing 102200, China)

【Abstract】 **Objective** To measure the organ weights, blood physiological and biochemical parameters of KK/Upj-Ay/J. **Methods** KK/Upj-Ay/J mice at five and ten weeks of age were selected, and the organ weights, blood physiological and biochemical parameters were observed. **Results** Parts of the organ weights, blood physiological and biochemical parameters of different ages and sexes were significant differences. The fasted blood glucose of KK/Upj-Ay/J mice reached 7.0mmol/L at 10 weeks of age. **Conclusion** The results show that the organ weights, blood physiological and biochemical parameters are affected by age and gender of KK/Upj-Ay/J mice. The fasted blood glucose reached the diabetes level at 10 weeks of age.

【Key words】 KK/Upj-Ay/J mice; Organ weights; Blood physiological and biochemical parameters; Blood glucose

KK 小鼠是由近藤恭司教授于 1957 年采用日本本土小鼠通过近交获得的。西村正彦^[1-2]教授在 1967 年将基因 Ay 导入 KK 小鼠体内获得 KKAy 小鼠, 因为体毛呈黄色, 也称为 yellow KK。Ay 突变基因因为毛色基因, 表现为黄色, 不仅可以影响小鼠的

毛色还可以引起代谢紊乱, 与肥胖和糖尿病的发生有关。KKAy 小鼠与正常小鼠相比表现为过量饮食、中度肥胖、高血糖、胰岛素抵抗等代谢异常综合征, 接近于人类 II 型糖尿病早期病变的特征, 是一种广泛应用于 II 型糖尿病和肥胖研究的自发型动

[基金项目] 科技部“重大新药创制”科技重大专项—啮齿类研发平台—创新药物研究开发技术平台建设(2011ZX09307-302-03)。

[作者简介] 刘旭(1986-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 生物化工。

[通讯作者] 杨志伟(1969-), 男, 博士, 研究员, 生理学专业。Email: yangzhiwei@hfkbio.com。

物模型^[3]。KK/Upj-Ay/J 小鼠是 KK 自发糖尿病小鼠的突变同源近交系,于 1998 年从 Jackson Laboratory 引进到国内。经过多代的繁育,饲养环境、营养水平已经发生了改变,有必要对该品系小鼠的相关生物学特征进行验证和探讨。因此我们对本公司 5、10 周龄 KK/Upj-Ay/J 小鼠的主要脏器重量、血液生理生化等指标进行了测定,为利用该品系进行 II 型糖尿病及肥胖症研究提供一些基础的生物学资料。

1 材料和方法

1.1 动物来源

取 SPF 级 KK/Upj-Ay/J 小鼠 5、10 周龄各 24 只,雌雄各半,共计 48 只,均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,生产许可证号为:SCXK(京)2009-0004。该动物实验于中国医学科学院实验动物研究所解剖实验室进行,实验动物使用许可证号为:SYXK(京)2013-0019。

1.2 饲养管理及环境

实验 KK/Upj-Ay/J 小鼠均饲养在北京华阜康生物科技股份有限公司 SPF 车间的隔离环境(隔离器)内,隔离环境的洁净度为 5 级标准,温度控制在 $24 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 $50\% \pm 10\%$,换气次数每小时为 20 次,明暗照明周期为 12 h:12 h,动物自由采食与饮水。

实验用料为北京华阜康生物科技股份有限公司生产的⁶⁰Co 辐射灭菌的鼠繁殖料 1035(SCXK(京)2009-0008)。主要营养指标为:粗蛋白 23.82%、粗脂肪 5.16%、粗灰分 7.19%、粗纤维 4.62%、水分 8.81%、钙 1.25%、磷 0.97%、赖氨酸 1.55%、蛋氨酸+胱氨酸 0.91%。饮用水为酸化过滤自来水($\text{pH} = 2.7 \sim 3.0$)并经 121°C 30 min 高压蒸汽灭菌。使用的笼具、水瓶、垫料等物品均经过 132°C 30 min 高压蒸汽灭菌,每周更换一次垫料,进出隔离器的物品均进行消毒处理,严格遵守隔离系统操作规程。

1.3 仪器及试剂

法国 ABX Pentra DX 120 血细胞分析仪和配套试剂、日立 7100 全自动生化分析仪和配套试剂、美国贝克曼 Allegra 64R 台式高速冷冻离心机。

1.4 实验方法

1.4.1 体重和脏器重量的测定

实验前禁食 12 h,禁水 1 h,用电子天平称取 5、

10 周龄小鼠体重,眼眶采血后脱颈椎处死,立即剖取脾脏、肝脏、肾脏、心脏、肺脏、脑、胸腺,并用滤纸吸干组织表面的水分,称取重量。

1.4.2 血生理指标测定

从小鼠眼眶后静脉丛采血,取 0.2 mL 血液到 EDTA2k 抗凝管内,进行血生理测定。12 项血生理指标为:血红蛋白(HGB)、红细胞(RBC)计数、白细胞(WBC)计数、淋巴细胞(LYM)、血小板(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RDW)。

1.4.3 血生化指标测定

将剩余的全血取 0.8 mL 到离心管内,3000 r/min,离心 10 min 后取血清,进行血生化测定。15 项血清生化指标为:总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)、白蛋白/球蛋白(A/G)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、血糖(GLU)、总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、总胆红素(TBIL)、尿素氮(UN)、肌酐(CREA)、无机磷(P)、血钙(Ca)。

1.5 结果处理

实验数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,采用 SPSS19.0 进行单因素方差分析,显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 KK/Upj-Ay/J 小鼠脏器重量的测定结果

由表 1 可见,5 周龄 KK/Upj-Ay/J 小鼠雌雄相比脏器重量没有显著性差异;10 周龄 KK/Upj-Ay/J 雄鼠的双肾、肝脏、心脏和胸腺重量高于雌鼠($P < 0.05$)。10 周龄雌鼠的体重、脾脏、双肾、肝脏、心脏、肺脏和脑重量高于 5 周龄雌鼠($P < 0.05$);10 周龄雄鼠的体重、脾脏、双肾、肝脏、心脏和肺脏重量高于 5 周龄雄鼠($P < 0.05$)。

2 KK/Upj-Ay/J 小鼠血生理的测定结果

由表 2 可见,5 周龄 KK/Upj-Ay/J 雄鼠的 RLT 高于雌鼠($P < 0.05$);10 周龄 KK/Upj-Ay/J 雌鼠的 WBC、HGB、MCV、MCH 和 LYM 高于雄鼠($P < 0.05$)。10 周龄雌鼠的 WBC、RBC、HGB、HCT 和 LYM 高于 5 周龄雌鼠($P < 0.05$);10 周龄雄鼠的 RBC、MCV、MCH、RLT 和 LYM 高于 5 周龄雄鼠($P < 0.05$)。

表 1 KK/Upj-Ay/J 小鼠主要脏器重量(单位:g)
Tab.1 The organ weights of KK/Upj-Ay/J mice(unit:g)

指标(Index)	5 周龄(5 weeks)		10 周龄(10 weeks)	
	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)
体重(Weight)	17.23 ± 2.45	18.87 ± 1.53	28.16 ± 3.62 ^B	29.71 ± 2.12 ^B
脾脏(Spleen)	0.049 ± 0.004	0.058 ± 0.014	0.067 ± 0.011 ^B	0.071 ± 0.013 ^B
肾脏左(Left kidney)	0.102 ± 0.009	0.110 ± 0.032	0.132 ± 0.020 ^B	0.180 ± 0.023 ^{AB}
肾脏右(Right kidney)	0.111 ± 0.031	0.129 ± 0.014	0.132 ± 0.015 ^B	0.186 ± 0.022 ^{AB}
肝脏(Liver)	0.675 ± 0.065	0.785 ± 0.079	0.916 ± 0.328 ^B	1.131 ± 0.161 ^{AB}
心脏(Heart)	0.091 ± 0.006	0.098 ± 0.011	0.111 ± 0.011 ^B	0.139 ± 0.024 ^{AB}
肺脏(Lung)	0.113 ± 0.018	0.128 ± 0.038	0.149 ± 0.026 ^B	0.157 ± 0.032 ^B
脑(Brain)	0.353 ± 0.023	0.345 ± 0.028	0.379 ± 0.030 ^B	0.362 ± 0.024
胸腺(Thymus)	0.063 ± 0.113	0.053 ± 0.008	0.072 ± 0.026	0.052 ± 0.015 ^A

注:同周龄小鼠雌雄相比,“A”表示平 $P < 0.05$;同性别、不同周龄小鼠相比,“B”表示平 $P < 0.05$ 。

Note: compared with male and female mice of the same age, “A” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “B” means $P < 0.05$.

表 2 KK/Upj-Ay/J 小鼠血生理指标
Tab.2 The blood physiological parameters of KK/Upj-Ay/J mice

指标(Index)	5 周龄(5 weeks)		10 周龄(10 weeks)	
	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)
白细胞(WBC) $10^9/L$	5.86 ± 0.59	5.58 ± 0.78	7.98 ± 2.21 ^B	5.34 ± 1.39 ^A
红细胞(RBC) $10^{12}/L$	10.08 ± 0.26	9.80 ± 0.35	10.70 ± 0.46 ^B	10.74 ± 0.42 ^B
血红蛋白(HGB) g/L	164.00 ± 5.70	161.36 ± 6.69	171.91 ± 9.40 ^B	165.50 ± 4.72 ^A
红细胞积压(HCT) L/L	0.48 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.51 ± 0.03 ^B	0.49 ± 0.02
红细胞平均积压(MCV) f L	48.16 ± 0.83	48.82 ± 1.07	47.25 ± 1.65	45.50 ± 0.79 ^{AB}
红细胞平均血红蛋白量(MCH) p g	16.28 ± 0.24	16.45 ± 0.34	16.06 ± 0.61	15.40 ± 0.41 ^{AB}
平均血红蛋白浓度(MCHC) g/L	337.58 ± 4.96	336.18 ± 3.42	340.16 ± 12.07	337.75 ± 7.31
红细胞体积分布宽度(RDW) %	12.44 ± 0.75	12.45 ± 0.52	12.83 ± 0.64	12.78 ± 0.55
血小板(RLT) $10^9/L$	868.36 ± 157.13	1080.63 ± 276.56 ^A	723.45 ± 118.72	845.50 ± 155.39 ^B
平均血小板体积(MPV) f L	5.77 ± 0.24	5.72 ± 0.15	5.95 ± 0.36	5.85 ± 0.32
血小板积压(PCT) %	0.49 ± 0.08	0.56 ± 0.09	0.49 ± 0.07	0.43 ± 0.07
淋巴细胞(LYM) $10^9/L$	4.09 ± 0.51	4.30 ± 0.55	5.85 ± 0.32 ^B	3.34 ± 0.80 ^{AB}

注:同周龄小鼠雌雄相比,“A”表示平 $P < 0.05$;同性别、不同周龄小鼠相比,“B”表示平 $P < 0.05$ 。

Note: compared with male and female mice of the same age, “A” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “B” means $P < 0.05$.

表 3 KK/Upj-Ay/J 小鼠血生化指标
Tab.3 The blood biochemical parameters of KK/Upj-Ay/J mice

指标(Index)	5 周龄(5 weeks)		10 周龄(10 weeks)	
	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)	雌(Female) (n = 12)	雄(Male) (n = 12)
总蛋白(TP) g/L	54.89 ± 3.62	55.91 ± 1.72	57.52 ± 3.65	56.06 ± 4.90
白蛋白(ALB) g/L	30.77 ± 1.95	29.93 ± 1.62	36.04 ± 2.23 ^B	29.96 ± 2.39 ^A
球蛋白(GLOB) g/L	24.11 ± 1.96	25.98 ± 1.38	21.48 ± 1.83 ^B	26.09 ± 4.09 ^A
白蛋白/球蛋白(A/G)	1.28 ± 0.07	1.15 ± 0.10 ^A	1.68 ± 0.11 ^B	1.17 ± 0.19 ^A
谷草转氨酶(AST) U/L	150.40 ± 70.55	151.60 ± 54.23	151.60 ± 53.45	179.54 ± 53.82
谷丙转氨酶(ALT) U/L	55.00 ± 18.39	56.00 ± 14.79	39.36 ± 12.46 ^B	58.36 ± 11.47 ^A
碱性磷酸酶(ALP) U/L	451.45 ± 54.80	457.16 ± 31.45	226.58 ± 31.01 ^B	182.00 ± 31.81 ^B
血糖(GLU) mmol/L	5.11 ± 1.56	4.04 ± 1.37	7.47 ± 3.19	8.29 ± 4.75 ^B
胆固醇(CHO) mmol/L	2.57 ± 0.31	3.07 ± 0.27 ^A	3.15 ± 0.47 ^B	2.65 ± 0.56 ^{AB}
甘油三酯(TG) mmol/L	2.55 ± 0.39	2.80 ± 0.43	1.85 ± 0.43 ^B	1.80 ± 0.33 ^B
总胆红素(TBIL) umol/L	1.37 ± 0.16	1.34 ± 0.15	1.74 ± 0.42 ^B	1.88 ± 0.42 ^B
尿素氮(UN) mmol/L	10.56 ± 1.34	10.07 ± 0.91	10.57 ± 1.70	11.27 ± 1.47
肌酐(CREA) umol/L	15.30 ± 1.74	14.37 ± 1.44	16.53 ± 1.48 ^B	15.22 ± 1.18 ^A
血钙(Ca) mmol/L	2.36 ± 0.07	2.54 ± 0.10 ^A	2.56 ± 0.16 ^B	2.47 ± 0.14
无机磷(P) mmol/L	3.54 ± 0.46	4.09 ± 0.37 ^A	2.81 ± 0.55 ^B	3.48 ± 0.62 ^{AB}

注:同周龄小鼠雌雄相比,“A”表示平 $P < 0.05$;同性别、不同周龄小鼠相比,“B”表示平 $P < 0.05$ 。

Note: compared with male and female mice of the same age, “A” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “B” means $P < 0.05$.

2.3 KK/Upj-Ay/J 小鼠血生化的测定结果

由表 3 可见,5 周龄 KK/Upj-Ay/J 雄鼠的 CHO、Ca 和 P 高于雌鼠,A/G 值则低于雌鼠($P < 0.05$);10 周龄 KK/Upj-Ay/J 雄鼠的 GLOB、ALT 和 P 高于雌鼠,ALB、A/G、CHO 和 CREA 则低于雌鼠($P < 0.05$)。10 周龄雌鼠的 ALB、A/G、CHO、TPIL 和 Ca 高于 5 周龄雌鼠,GLOB、ALT、ALP、TG 和 P 则低于 5 周龄雌鼠($P < 0.05$);10 周龄雄鼠的 GLU 和 TBIL 高于 5 周龄雄鼠,CHO、TG 和 P 则低于 5 周龄雄鼠($P < 0.05$)。

3 讨论

KK/Upj-Ay/J 小鼠是 KK 自发糖尿病小鼠的突变同源近交系,基因型为 A^y/a 杂合子,毛色表现为黄色,眼为黑色;小鼠在 8 周龄左右出现高血糖,高胰岛素和葡萄糖耐受不良等症状,出生后几个月由于变得肥胖而不育。是一种广泛应用于肥胖和 2 型糖尿病研究的试验动物模型。截止目前国内外使用 KKAy 小鼠进行 II 型糖尿病和降血糖的研究很多,但对于 KK/Upj-Ay/J 小鼠的主要脏器,血生理生化等基本生物学特征的研究不多,而这些指标又是利用该品系小鼠进行科学研究的重要参考数据。

本研究选取 5 周龄青年小鼠和 10 周龄壮年小鼠进行对比研究,避开 6~8 周逐渐性成熟的不稳定时期^[4]。通过对 5、10 周龄的 KK/Upj-Ay/J 小鼠的主要脏器重量、12 项血生理和 15 项血生化指标进行统计分析,结果表明:不同周龄和性别的 KK/Upj-Ay/J 小鼠在脏器重量和血生理生化上有差异性。可见周龄和性别对脏器和血生理生化是有一定影响的。

KK 糖尿病小鼠是自发突变糖尿病模型,呈多基因遗传性,KKAy 源于 KK 鼠,因此 KKAy 小鼠的糖尿病遗传背景也为多基因遗传性疾病。研究表明,在普通饲养条件下只有约 40%~50% 的 KKAy 小鼠在 8 周龄左右出现高血糖、肥胖等糖尿病症状,但在饲喂高能量饮食的条件下有 75% 左右的 KKAy 小鼠发展为糖尿病^[5]。例如饲喂 KK/Upj-Ay/J 小鼠 KK 鼠专用饲料,可以使 KK 鼠保持典型的模型特征(高血糖、高胰岛素血症、胰岛素拮抗、过量饮食和肥胖等)^[6]。这说明遗传因素控制着 KK/Upj-

Ay/J 小鼠 II 型糖尿病的发病,决定了该品系对 II 型糖尿病的易感性,但饮食作为一个重要的环境因素在发病过程中也起着重要的作用^[7-8]。通过把本研究的体重和血糖与其他研究比较分析发现,在 10 周龄时我们的 KKAy 小鼠体重略低^[1,9-10],这可能是由于饲喂饮食的能量值不同及未做禁食处理有关。相近周龄的空腹血糖值较相关报道略高^[11],根据空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L 即判定为糖尿病发病的一般判定标准^[7],KK/Upj-Ay/J 小鼠在 10 周龄时基本上出现糖尿病的症状。因此,本研究表明 KK/Upj-Ay/J 小鼠在 10 周龄左右出现高血糖症状,可以做为 II 型糖尿病及肥胖症的研究模型,配合高能量饮食饲喂可获得更好的研究效果。

参考文献:

- [1] HISASHI IWATSUKA, AKIO SHINO, ZIRO SUZUOKI. General Survey of Diabetic Features of Yellow KK Mice [J]. *Endocrinol*, 1970, 17(1): 23-25.
- [2] <http://jaxmice.jax.org/strain/002468.html>
- [3] 张连峰,秦川. 小鼠资源和比较医学信息 [M]. 北京, 2009.
- [4] 李厚达. 实验动物学 (2) [M], 中国农业出版社, 2003: 100-103.
- [5] 郭清华,陆菊明,潘长玉. 饮食能量对 Kkay 及 Kk 小鼠 2 型糖尿病发病的影响 [J]. 军医进修学院学报, 2005, 26(2): 104-142.
- [6] 北京华阜康生物科技股份有限公司, KK 鼠配合饲料: 中国, ZL201110127312.5 [P]. 2013-06-26.
- [7] 张晓娟,孙景江,田玉书,等. Ay 基因对 KKP/Upj-Ay/J 小鼠繁殖性能与血糖的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(10): 582-584.
- [8] 张晓娟,田玉书,刘云波. 影响 2 型糖尿病动物模型 KKP/Upj-Ay/J 小鼠血糖的因素 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(1): 15-17.
- [9] 刘晓丹,杨刚,范秋灵,等. 自发性 2 型糖尿病动物模型 KKAy 小鼠肾脏损害的特征与演变 [J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(2): 104-106.
- [10] 李娜,张周. II 型糖尿病 KK-Ay/Ta 小鼠部分生物学特性分析 [J]. 上海交通大学学报, 2009, 27(4): 341-345.
- [11] Jun-ichi Suto, Saori Matsuura, Kenkichi Imamura, et al. Genetic analysis of non-insulin-dependent diabetes mellitus in KK and KK-Ay mice [J]. *European Journal of Endocrinology*, 1998, 139: 654-661.

[修回日期] 2014-04-03