

DOI:10.3969/j.issn.1000-7083.2011.02.005

## C57BL/6J-HBV 转基因小鼠随增龄乙肝表面抗原表达及转氨酶水平变化探讨

陈迪, 田枫\*, 康爱君, 王学文, 郑振辉

(北京大学医学部实验动物科学部, 北京 100191)

**摘要:**目的 探讨 C57BL/6J-HBV 乙肝转基因小鼠随增龄表面抗原表达及转氨酶水平的变化。方法 经血清表面抗原检测, 根据 S/C. O 值将乙肝转基因小鼠分为两组, 两组小鼠在 4~10 周龄每隔一周以酶联免疫吸附法测定血清表面抗原水平; 各组小鼠在 5~11 周龄每隔一周以全自动生化分析仪测定小鼠血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 水平。结果 实验 1 组 HBV 乙肝转基因小鼠表面抗原表达 6 周龄与 4 周龄相比显著增高, 6 周龄至 10 周龄趋于稳定; 实验 2 组的雄性小鼠表面抗原表达 6 周龄与 4 周龄相比极显著降低 ( $P < 0.01$ ), 而雌性小鼠在 4 周龄至 10 周龄表面抗原表达相对稳定。实验 1 组的雄性小鼠 ALT 水平 9 周龄与 7 周龄比较显著下降 ( $P < 0.05$ ), 其余小鼠在 5 周龄至 11 周龄呈现下降趋势, 但无显著性差异。实验 1 组的雄性小鼠 AST 水平 11 周龄与 7 周龄相比显著升高 ( $P < 0.05$ )。结论 乙肝表面抗原 S/C. O 值不同的转基因小鼠表面抗原表达随增龄变化趋势不同; 血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶水平在 5~11 周龄变化趋势相反。

**关键词:** 乙肝转基因小鼠; 表面抗原; 转氨酶

中图分类号: Q959.8; Q51; Q55 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2011)02-0186-03

## Study on Changes in HBsAg Expression and Glutamic-pyruvic Transaminase Levels with Age in C57BL/6J-HBV Transgenic Mice

CHEN Di, TIAN Feng\*, KANG Ai-jun, WANG Xue-wen, ZHENG Zhen-hui

(Department of Laboratory Animal Science, Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)

**Abstract: Objective** To investigate the changes in HBsAg expression and glutamic-pyruvic transaminase levels with age in C57BL/6J-HBV transgenic mice. **Methods** HBV transgenic mice were divided into two groups according to S/C. O value. Serum HBsAg were measured by using ELISA assay every other week from four-weeks to ten-weeks in all mice and the glutamic-pyruvic transaminase level was determined by automatic biochemical analyzer every other week from five-weeks to eleven-weeks old. **Results** HBsAg expression in six-week old mice went up markedly compared with four-week old individuals in the first group. HBsAg expression in six-week old male mice went down significantly ( $P < 0.01$ ) in comparison to four-week olds in the second group while no obvious changes were observed from four-weeks to ten-weeks old in female mice of the same group. ALT levels of nine-week old male mice was lower ( $P < 0.05$ ) than that of seven-week olds in the first group. AST levels of eleven-week old male mice was higher than that of seven-week old mice in the first group. **Conclusion** The change in HBsAg expression was different because of different S/C. O values and variations in ALT and AST was reverse from five-week to eleven-week olds in HBV transgenic mice.

**Key words:** HBV transgenic mice; hepatitis B surface antigen; Glutamic-pyruvic transaminase

C57BL/6J-HBV 乙肝转基因小鼠自 1998 年从美国杰克逊实验室引进中国, 近几年已成为国内进行乙肝发病机理及抗乙肝药物研发及新型乙肝疫苗研发较佳的动物模型。北京大学医学部实验动物科学部曾对 C57BL/6J-HBV 乙肝转基因小鼠的特性进行了系列探讨(康爱君等, 2002; 田枫等, 2002), 为科研工作者提供

了重要的基础数据。为更好地满足研究者的需要, 本研究继续探讨该小鼠在 4 周龄至 11 周龄发育期血清表面抗原表达水平变化及转氨酶水平的变化。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物

收稿日期: 2010-06-23 接受日期: 2010-07-30

作者简介: 陈迪 (1988 ~), 2010 届本科毕业生 \* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: fengtian38@yahoo.com.cn

清洁级 C57BL/6J-HBV 转基因小鼠,4 周龄,北京  
大学医学部实验动物科学部饲养,合格证号:SCXK  
(京)2006-0008;饲养条件为 22 ~ 26℃,14L:10D 光照  
周期,合格证号:SYXK(京)2006-0025。自由饮水,取  
食饲料来源于科澳协力饲料公司,合格证号:SCXK  
(京)2005-0007。

1.2 主要试剂

乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒,批号:  
B10KA,购自北京探针生物技术有限公司,荷兰  
Akionobel 公司生产;谷草转氨酶(AST)试剂盒,批  
号:090611.200909,购自北京中生北控生物工程科  
技有限公司;谷丙转氨酶(ALT)试剂盒,批号:  
091251.200909,购自北京中生北控生物工程科技有  
限公司。

1.3 方法

1.3.1 分组 根据血清表面抗原(HBsAg)检测的  
结果,选取 S/C. O(OD/临界值)值为 10.0 ~ 20.0 的  
C57BL/6J-HBV 转基因小鼠为实验 1 组,4 周龄,20  
只,雌雄各半;选取 S/C. O 值为 1.0 ~ 2.0 的 C57BL/  
6J-HBV 转基因小鼠为实验 2 组,4 周龄,20 只,雌雄  
各半。

1.3.2 随增龄小鼠血清 HBsAg 检测 各组小鼠第

4、6、8、10 周龄眼眶内眦取血,分离血清,用酶联免  
疫吸附法(ELISA)检测血清中 HBsAg, BIO-RAD 550  
型酶标仪测吸光度 OD 值。

1.3.3 随增龄小鼠血清转氨酶的检测 各组小鼠第  
5、7、9、11 周龄眼眶内眦取血,每次取血量约 200 μL,  
取血前禁食 10 ~ 12 h,分离血清,用 AUTOLAB V1.0  
全自动生化分析仪检测 AST 和 ALT。

1.4 统计学方法

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 13.5 for windows  
统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 HBV 转基因小鼠血清 HBsAg 表达随增龄变  
化情况

实验 1 组的 HBV 乙型肝炎转基因雄性小鼠  
HBsAg 表达 6 周龄与 4 周龄相比极显著增高( $P < 0.01$ ),6 周龄至 10 周龄趋于稳定;雌性小鼠 HBsAg  
表达 6 周龄与 4 周龄相比显著增高( $P < 0.05$ ),6 周  
龄至 10 周龄趋于稳定(表 1)。实验 2 组的雄性小  
鼠 HBsAg 表达 6 周龄与 4 周龄相比极显著降低( $P < 0.01$ ),雌性小鼠在 4 周龄至 10 周龄 HBsAg 表达  
相对稳定(表 2)。

表 1 实验 1 组 HBV 转基因小鼠 HBsAg 表达随年龄变化( $\bar{x} \pm s$ , S/C. O)  
Table 1 HBsAg expression of HBV transgenic mice with age in the first group ( $\bar{x} \pm s$ , S/C. O)

组别 Group	样本数 Sample number	4 周龄 Four-week old	6 周龄 Six-week old	8 周龄 Eight-week old	10 周龄 Ten-week old
实验 1 组♂	10	15.69 ± 2.57	30.95 ± 2.89**	26.68 ± 13.10	27.06 ± 13.57
实验 1 组♀	10	15.62 ± 1.67	23.86 ± 1.92*	27.73 ± 1.57	25.85 ± 0.72

\*\*  $P < 0.01$ , vs 实验 1 组 4 周龄雄性小鼠; \*  $P < 0.05$ , vs 实验 1 组 4 周龄雌性小鼠

表 2 实验 2 组 HBV 转基因小鼠 HBsAg 表达随年龄变化( $\bar{x} \pm s$ , S/C. O)  
Table 2 HBsAg expression of HBV transgenic mice with age in the second group ( $\bar{x} \pm s$ , S/C. O)

组别 Group	样本数 Sample number	4 周龄 Four-week old	6 周龄 Six-week old	8 周龄 Eight-week old	10 周龄 Ten-week old
实验 2 组♂	10	1.27 ± 0.16	0.81 ± 0.13 $\Delta\Delta$	0.91 ± 0.32	0.57 ± 0.29
实验 2 组♀	10	1.38 ± 0.30	1.63 ± 0.49	1.44 ± 0.61	2.21 ± 1.67

$\Delta\Delta$ :  $P < 0.01$ , vs 实验 2 组 4 周龄雄性小鼠

2.2 HBV 转基因小鼠血清转氨酶随增龄变化情况

2.2.1 HBV 转基因小鼠谷丙转氨酶随增龄变化情  
况 实验 1 组的 HBV 转基因雄性小鼠 ALT 水平 9

周龄与 7 周龄比较显著下降( $P < 0.05$ ),实验 1 组  
雌性小鼠和实验 2 组小鼠随增龄在 5 周龄至 11 周  
龄呈现下降趋势,但无显著性差异(表 3)。

表 3 HBV 转基因小鼠谷氨酸丙酮酸转氨酶(ALT)随年龄变化( $\bar{x} \pm s$ , U/L)  
Table 3 ALT level of HBV transgenic mice with age ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别 Group	样本数 Sample number	5 周龄 Five-week old	7 周龄 Seven-week old	9 周龄 Nine-week old	11 周龄 Eleven-week old
实验 1 组♂	10	134.78 ± 7.59	132.20 ± 35.38	78.08 ± 30.44*	80.98 ± 10.24
实验 1 组♀	10	70.60 ± 4.60	88.60 ± 36.72	82.06 ± 15.00	82.98 ± 20.62
实验 2 组♂	10	71.27 ± 4.97	79.6 ± 20.88	58.63 ± 5.84	64.50 ± 13.69
实验 2 组♀	10	66.90 ± 3.54	70.63 ± 14.81	63.63 ± 4.27	55.37 ± 1.95

\*  $P < 0.05$ , vs 实验 1 组 7 周龄雄性小鼠

2.3.2 HBV 转基因小鼠谷草转氨酶随增龄变化情况 实验 1 组的雄性小鼠 AST 水平 11 周龄与 7 周龄相比显著升高 ( $P < 0.05$ ), 雌性小鼠 AST 水平 7

周龄与 5 周龄相比升高, 但无显著性差异; 实验 2 组小鼠 AST 水平随增龄升高, 但无显著差异(表 4)。

表 4 HBV 转基因小鼠谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (AST) 随年龄变化 ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)  
Table 4 AST level of HBV transgenic mice with age ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别 Group	样本数 Sample number	5 周龄 Five-week old	7 周龄 Seven-week old	9 周龄 Nine-week old	11 周龄 Eleven-week old
实验 1 组♂	10	179.12 ± 32.62	161.8 ± 19.56	217.32 ± 61.49	273.15 ± 66.82*
实验 1 组♀	10	123.35 ± 7.18	158.80 ± 16.53	142.87 ± 33.07	175.47 ± 42.25
实验 2 组♂	10	195.20 ± 41.49	153.26 ± 12.17	168.34 ± 24.03	194.67 ± 56.71
实验 2 组♀	10	123.11 ± 28.76	166.36 ± 62.94	197.86 ± 83.80	227.56 ± 81.24

\*  $P < 0.05$ , vs 实验 1 组 7 周龄雄性小鼠

### 3 讨论

根据小鼠的生殖特性, 小鼠通常 3~4 周龄离乳; 性成熟期雌性一般在 5~7 周龄, 雄性在 6~8 周龄(何诚, 2006)。本实验结果显示血清表面抗原表达水平相对较高的 S/C.O 值在 10.0~20.0 的无论雄性或雌性转基因小鼠, 在 6 周龄时均比 4 周龄时表面抗原表达水平显著升高。由于在这一时期雌雄小鼠都处于性器官发育期, 体内的性激素水平也在逐渐升高, 由此可能导致表面抗原表达水平也在升高, 而到了第 8 周, 雌雄小鼠性功能发育都基本成熟, 表面抗原表达水平也趋于稳定。实验结果同时提示本部提供给科研工作者使用的鼠龄在 6~8 周, 血清表面抗原 S/C.O 值通常为 10.0~20.0 的乙肝转基因小鼠血清表面抗原表达是相对稳定的, 适用于药物筛选等研究工作。

而血清表面抗原表达水平相对较低的 S/C.O 值在 1.0~2.0 的乙肝转基因小鼠在 4~10 周龄随增龄表面抗原表达水平不稳定, 雄性小鼠呈下降趋势, 甚至可能低于临界值; 而雌性小鼠在 10 周龄表达则上升, 鉴于这种情况, 乙肝表面抗原检测结果 S/C.O 值在 1.0~2.0 的小鼠在作为乙肝动物模型

使用时需慎重。

C57BL/6J-HBV 转基因小鼠血清中 ALT 和 AST 水平较正常对照小鼠显著升高(康爱君等, 2008)。本研究结果显示两组转基因小鼠血清中 ALT 水平在 5~11 周龄呈下降趋势, 特别是 S/C.O 值在 10.0~20.0 的雄性小鼠下降明显; 而 AST 水平则呈上升趋势, ALT 水平与 AST 水平随增龄变化趋势相反。从实验结果还可看到, 乙肝转基因小鼠血清中转氨酶的水平与表面抗原的水平可能并无相关性, 还需进一步探讨。

综上所述, 使用该乙肝转基因小鼠进行研究时, 应考虑到模型本身随增龄表面抗原表达的变化及血清转氨酶水平的变化特点, 选择适宜的性别及年龄的小鼠进行实验。

### 4 参考文献

- 何诚. 2006. 实验动物学[M]. 北京: 中国农业大学出版社: 65.  
康爱君, 董宇红, 田枫, 等. 2002. 乙型肝炎病毒转基因小鼠病理学观察[J]. 中国比较医学杂志, 12(1): 9~11.  
康爱君, 田枫, 张阔, 等. 2008. C57BL/6J-HBV 转基因小鼠血清生化指标与性别年龄的关系[J]. 中国比较医学杂志, 18(1): 34~36.  
田枫, 康爱君, 董宇红, 等. 2002. C57BL/6J-HBV 转基因小鼠的繁育与检测[J]. 中国实验动物学报, 10(1): 61~63.