



非洲绿猴血液学和血清生化指标的测定及分析

周小军,袁菊芳,定明,王进,叶华虎*,法云智

(军事医学科学院实验动物中心,北京 100071)

【摘要】 目的 检测50只健康非洲绿猴血液学、血清生化指标,分析不同性别、不同年龄段(青幼年组:1~3岁,成年组:4~6岁)非洲绿猴的血液学、血清生化指标的差异。方法 应用全自动血细胞分析仪及血液生化分析仪分别测定清醒状态下健康非洲绿猴血液学及血清生化指标。结果 血液学指标中青幼年组与成年组差异显著的指标有红细胞数(RBC)、血红蛋白(HGB)、血细胞压积(HCT)、中性粒细胞百分比(NEUT%)、淋巴细胞百分比(LYMPH%)、单核粒细胞百分比(MONO%)、嗜碱性粒细胞百分比(BASO%)($P < 0.05$)。青幼年组中雌猴与雄猴差异显著的指标有白细胞数(WBC)、RBC、HGB、HCT、NEUT%、LYMPH%、MONO%($P < 0.05$),成年组中雌猴与雄猴差异显著的指标有HCT($P < 0.05$),其它指标差异不显著。血清生化指标中青幼年组与成年组差异显著的指标有白蛋白(ALB)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酐(CREA)($P < 0.05$),青幼年组雌猴与雄猴差异显著的指标有CREA($P < 0.05$),成年组雌猴与雄猴差异显著的指标有总蛋白(TP)、胆固醇(CHOL)($P < 0.05$),其它指标差异不显著。结论 本文初步建立了非洲绿猴的常规生物学数据,为评价其生物学特性及相关应用提供一定的数据基础,可供参考。

【关键词】 非洲绿猴;血液学指标;血清生化指标

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017)11-0006-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.11.002

Measurement and analysis of hematologic and serum biochemical parameters in African green monkeys

ZHOU Xiao-jun, YUAN Ju-fang, DING Ming, WANG Jin, YE Hua-hu*, FA Yun-zhi
(Laboratory Animal Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

【Abstract】 Objective To determine the hematological and serum biochemical parameters of 50 healthy African green monkeys, and to analyze the difference of these values between different groups of sex and age (the juvenile group: 1 - 3 years old, the adult group: 4 - 6 years old). **Methods** Blood samples were obtained from the monkeys in the awake state, and the hematological and serum biochemical parameters of the samples were measured using an automatic blood cell analyzer and blood biochemical analyzer, respectively. **Results** Among all of the hematologic values, the number of red blood cells (RBC), the amount of hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), and percentages of the neutrophils (NEUT%), lymphocytes (LYMPH%), monocytes (MONO%) and basophils (BASO%) were significantly different between the juvenile group and the adult group ($P < 0.05$). In the juvenile group, parameters such as the number of the white blood cells (WBC), RBC, HGB, HCT, NEUT%, LYMPH%, MONO% were significantly different between the female and the male monkeys ($P < 0.05$). As for the adult group, the HCT value was of significant

[基金项目]国家自然科学基金(编号:31272514,31501908)。

[作者简介]周小军(1983-),男,助理研究员,博士,研究方向:非人灵长类实验动物模型。E-mail: zhouxiaojun320320@126.com

[通讯作者]叶华虎(1970-),男,副研究员,博士,研究方向:实验动物病毒学。E-mail: huahuy512@126.com

difference, while the other indexes were not significantly different between the female and male monkeys ($P < 0.05$). Among the serum biochemical values, the quantities of albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and creatinine (CREA) were significantly different between the juvenile group and adult group ($P < 0.05$). The amount of CREA of the juvenile females was significantly different from that of the juvenile males ($P < 0.05$), and the values of total protein (TP) and cholesterol (CHOL) of the adult females were significantly different from those of the adult males ($P < 0.05$), while the other indexes were not significantly different. **Conclusions** As a reference, the routine biological data of African green monkeys we have established in this study lay a foundation for the evaluation of their biological properties and further application in related studies.

【Key words】 African green monkeys; Hematological parameters; Serum biochemical parameters

非人灵长类作为科研战略性资源已成为一种共识,我国是灵长类动物资源丰富的国家之一,现已查明的非人灵长类动物超过 7 大类 20 余种,但成功驯养且达到规模化生产的实验动物仅有中国源恒河猴和食蟹猴。一些在疫苗评价、AIDS 研究、移植等领域广泛使用且被证实是最好模型的非洲绿猴、狨猴、狒狒等动物在我国尚属空白。引进整合国内外具有重要研究和开发价值或潜在价值的非人灵长类,完成人工驯养、种群扩繁、规范化饲养管理,将对我国在重大疾病(如肝炎、AIDS、心血管疾病、肿瘤等)领域的基础研究和新药研发提供有力支撑。非洲绿猴(African green monkey, AGM),属灵长目猕猴科绿猴属,生活在撒哈拉沙漠以南非洲国家的热带草原地区。非洲绿猴在生物医学研究,如神经生物学、心血管疾病、病毒感染及药学评价等方面有许多应用^[1-5]。本中心是首家将非洲绿猴引进国内开展实验动物化培育的单位,本研究较全面地检测了非洲绿猴各项血液学和血清生化指标,并根据动物的不同性别、不同年龄进行统计学分析。该正常参考值的建立,也将为新药开发及安全性评价、猴群饲养管理中疾病的诊疗等提供参考数据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本中心饲养的非洲绿猴 50 只外购自乌干达,雌性 30 只,雄性 20 只。级别:普通级;年龄:1 ~ 6 岁 [SCXK (军) 2012 - 0019]。饲养条件:单笼饲养,动物室温度维持在 18℃ ~ 28℃,湿度控制在 40% ~ 70%,室内空气每小时更换 8 ~ 10 次,照度 150 ~ 300 Lux;12 h 光照/黑暗循环控制 [SYXK (军) 2012 - 0021]。每日饲喂全价营养颗粒料,辅以清洁水果,自由饮水。

1.2 实验方法

1.2.1 血样采集

在非洲绿猴清醒空腹状态下,通过后肢静脉采

集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝血共 1 mL,非抗凝血 3 mL。全血凝结后,3000 rpm 离心 15 min 分离血清待用。抗凝血用于血液学指标检测,血清用于血清生化指标检测,血液学及血清生化指标检测在军事医学科学院附属医院检验科完成。

1.2.2 血液学指标测定

在采血后 2 h 内,应用贝克曼全自动血球计数仪检测以下血液学指标:白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、血细胞压积(HCT)、红细胞平均容量(MCV)、红细胞平均血红蛋白容量(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板计数(PLT)、中性粒细胞百分比(NEUT%)、淋巴细胞百分比(LYMPH%)、单核粒细胞百分比(MONO%)、嗜碱性粒细胞百分比(BASO%)、嗜酸性粒细胞百分比(EO%)。

1.2.3 血清生化指标测定

在采血后 2 h 内,应用贝克曼全自动生化分析仪检测以下血清生化指标:血糖(GLU)、肌酸激酶(CK)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 统计学软件对测定结果进行 t 检验及统计学分析,计量资料以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 非洲绿猴血液学指标比较

青少年雄猴组与成年雄猴组差异有显著性的血液学指标有 RBC、HGB、HCT、NEUT%、LYMPH%、MONO% ($P < 0.05$),青少年雌猴组与成年雌猴组差异有显著性的指标有 RBC、

LYMPH%、BASO% ($P < 0.05$); 青幼年组中雌猴与雄猴差异有显著性的指标有 WBC、RBC、HGB、HCT、NEUT%、LYMPH%、MONO% ($P < 0.05$), 成年组中雌猴与雄猴差异有显著性的指标有 HCT ($P < 0.05$), 其它指标差异无显著性。见表 1。

表 1 非洲绿猴血液学指标的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 50$)

Tab. 1 Comparison of hematological parameters of African green monkeys

数量 Quantities	1 ~ 3 岁 1-3 years old		4 ~ 6 岁 4-6 years old	
	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female
	9	14	11	16
WBC / $10^9/L$	5.0 ± 2.0	5.3 ± 2.5 #	5.8 ± 2.4	6.7 ± 2.3
RBC / $10^{12}/L$	6.9 ± 0.6	5.9 ± 0.6 #	6.1 ± 0.7 *	5.6 ± 0.4 *
HGB /g/L	156.2 ± 13.5	133.0 ± 15.1 #	136.5 ± 15.2 *	126.3 ± 10.3
HCT /%	52.7 ± 3.8	44.0 ± 4.4 #	45.5 ± 5.3 *	42.2 ± 2.4 #
MCV /fL	75.8 ± 2.4	74.3 ± 4.2	75.2 ± 3.8	75.7 ± 3.5
MCH /pg	22.4 ± 0.7	22.4 ± 1.4	22.4 ± 1.0	22.6 ± 1.3
MCHC /g/L	296.0 ± 9.1	302.2 ± 10.2	298.1 ± 8.3	299.0 ± 10.2
PLT / $10^3/\mu L$	262.2 ± 56.1	270.4 ± 103.2	250.2 ± 106.5	237.1 ± 61.1
NEUT /%	52.7 ± 3.8	44.1 ± 4.4 #	45.5 ± 5.3 *	42.2 ± 2.4
LYMPH /%	39.1 ± 14.8	53.7 ± 20.6 #	61.8 ± 19.9 *	63.7 ± 18.4 *
MONO /%	6.1 ± 1.9	4.2 ± 2.1 #	3.6 ± 1.4 *	3.0 ± 1.3
EO /%	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.3	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.3
BASO /%	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.3	0.2 ± 0.1 *

注:与青幼年同性别组相比, * $P < 0.05$; 与同年龄雌性组相比, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the juvenile group of the same sex, * $P < 0.05$; Compared with the male group of the same age, # $P < 0.05$.

2.2 非洲绿猴血清生化指标比较

青幼年组与成年组差异有显著性的指标有 ALB、AST、ALP、CREA ($P < 0.05$), 青幼年组雌猴与雄猴差异有显著性的指标有 CREA ($P < 0.05$), 成年组雌猴与雄猴差异有显著性的指标有 TP、CHOL ($P < 0.05$), 其它指标差异无显著性。见表 2。

表 2 非洲绿猴血清生化指标比较 ($\bar{x} \pm s, n = 50$)

Tab. 2 Comparison of serum biochemical parameters of African green monkeys

数量 Quantities	1 ~ 3 岁 1-3 years old		4 ~ 6 岁 4-6 years old	
	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female
	9	14	11	16
GLU /mmol/L	4.4 ± 1.4	4.9 ± 2.0	3.7 ± 1.5	5.0 ± 2.9
TP /g/L	59.0 ± 6.2	61.2 ± 7.1	61.0 ± 4.0	65.3 ± 5.2 #
ALB /g/L	56.1 ± 5.0	58.0 ± 6.2	50.3 ± 5.1 *	54.2 ± 4.2 *
TG /mg/L	389.2 ± 106.1	469.1 ± 115.2	478.3 ± 212.3	548.2 ± 133.2
CHOL /g/L	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2 #
ALT /U/L	65.4 ± 28.5	55.4 ± 31.5	87.5 ± 66.0	48.8 ± 22.7
AST /U/L	123.9 ± 32.9	99.1 ± 20.2	84.6 ± 28.6 *	48.8 ± 22.7 *
ALP /U/L	106.4 ± 72.8	278.5 ± 146.0	66.8 ± 13.9 *	196.3 ± 166.8 *
CK /U/L	177.0 ± 96.5	334.6 ± 365.7	335.5 ± 316.0	434.1 ± 363.0
LDH /U/L	448.2 ± 150.0	602.1 ± 255.7	537.6 ± 193.2	760.3 ± 428.3
BUN /mg/L	245.2 ± 84.1	258.1 ± 75.2	265.0 ± 94.2	312.2 ± 102.1
CREA /mg/L	745.2 ± 69.1	635.1 ± 71.0 #	655.2 ± 82.2 *	670.1 ± 85.1 *

注:与青幼年同性别组相比, * $P < 0.05$; 与同年龄雌性组相比, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the juvenile group of the same sex, * $P < 0.05$; Compared with the male group of the same age, # $P < 0.05$.

3 讨论

作为与人类亲缘关系最为接近的物种, 非人灵长类与人类具有高度遗传同源性, 为基础研究和临床前研究提供了理想的动物模型。我国灵长类动物资源丰富, 但成功驯养且达到规模化生产的实验动物仅有中国源恒河猴和食蟹猴。近年来, 我国的一些特色非人灵长类资源在开发利用上显示出良好的苗头, 如平顶猴是 HIV 的易感动物且病变过程与人 AIDS 相似^[6]; 藏酋猴对志贺菌高度敏感, 其生物节律与人最接近^[7]。但受限于资源的稀有性和人工培育的落后, 平顶猴、藏酋猴等动物在国内外尚未建成标准化实验动物, 而且动物的遗传背景、环境差异、微生物质量、饲养规范都不明确, 研究结果的科学性得不到保证。非洲绿猴在疫苗评价、

AIDS 研究和移植等领域被广泛应用,将其引入国内并开展人工驯养、种群扩繁以及标准化饲养研究,对相关领域(如肝炎、AIDS、心血管疾病、肿瘤等)的基础研究和新药研发等具有重要价值。

非洲绿猴在生物医学研究,如神经生物学、心血管疾病、病毒感染及药理学评价等方面有许多应用^[8]。建立非洲绿猴相关基础生物学数据对于其实验动物化培育及开展相关研究都至关重要,为此本研究较全面地检测了非洲绿猴各项血液学和血清生化指标,其中大部分指标的范围与 Chichester 等^[9]的报道基本一致,ALB 均值略偏高,PLT、TP、TG、CHOL 均值略偏低,可能与营养状况和遗传差异有关,ALP、CK、LDH 等代谢酶类指标样本间波动相对较大,也与文献相符^[9-11]。本研究使用的非洲绿猴受种群数量限制,年龄段不够宽泛,一定程度上增加了统计学差异。另外,与恒河猴和食蟹猴有关数据相比^[12-15],非洲绿猴均值偏高的指标有 WBC、BUN、CREA,均值偏低的指标有 PLT、TP,也表现出一定的种间差异性。

除了性别和年龄外,营养与饲养方式、血样的采集与储存运送、试剂及检测方法等不同,也会影响相应指标的测定。本文选取的 50 只非洲绿猴健康及精神状况均良好,采血方式为清醒空腹状态下采集后肢静脉血,选用试剂和仪器可以保证结果的均一性和可靠性。此外,非洲绿猴应激反应比恒河猴和食蟹猴更强,抓捕猴子应避免其过度惊吓引起肾上腺素升高而导致一些酶类物质代谢异常,从而影响其测定值的波动范围。综上,本研究初步建立了非洲绿猴血液学和血清生化指标的正常参考值,可为新药开发及安全性评价、猴群饲养管理中疾病的诊疗等提供参考数据。

参考文献:

- [1] Elsworth JD, Taylor JR, Sladek JR Jr, et al. Striatal dopaminergic correlates of stable parkinsonism and degree of recovery in old-world primates one year after MPTP treatment [J]. *Neuroscience*, 2000, 95(2): 399-408.
- [2] Cook JJ, Sitko GR, Bednar B, et al. An antibody against the exosite of the cloned thrombin receptor inhibits experimental arterial thrombosis in the African green monkey [J]. *Circulation*, 1995, 91(12): 2961-2971.
- [3] Norley SG. SIV_{agm} infection of its natural African green monkey host [J]. *Immunol Lett*, 1996, 51(1-2): 53-58.
- [4] Weiss WJ, Murphy T, Lynch ME, et al. Inhalation efficacy of RFI-641 in an African green monkey model of RSV infection [J]. *J Med Primatol*, 2003, 32(2): 82-88.
- [5] Ward KW, Coon DJ, Magiera D, et al. Exploration of the African green monkey as a preclinical pharmacokinetic model: intravenous pharmacokinetic parameters [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(4): 715-720.
- [6] 雷爱华, 庞伟, 张高红, 等. 平顶猴在 HIV/AIDS 动物模型中的应用及研究进展 [J]. *动物学研究*, 2013, 34(2): 77-88.
- [7] 王红星, 易勇, 周亮, 等. 藏酋猴 (*Macaca thibetana*) 实验动物化和应用研究进展 [A]. 第十届中国实验动物科学年会论文集 [C]. 2012.
- [8] Jasinska AJ, Schmitt CA, Service SK, et al. Systems biology of the vervet monkey [J]. *ILAR J*, 2013, 54(2): 122-143.
- [9] Chichester L, Gee MK, Jorgensen MJ, et al. Hematology and clinical chemistry measures during and after pregnancy and age- and sex-specific reference intervals in African green monkeys (*Chlorocebus aethiops sabaeus*) [J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2015, 54(4): 359-367.
- [10] Liddie S, Goody RJ, Valles R, et al. Clinical chemistry and hematology values in a Caribbean population of African green monkeys [J]. *J Med Primatol*, 2010, 39(6): 389-398.
- [11] Sato A, Fairbanks LA, Lawson T, et al. Effects of age and sex on hematologic and serum biochemical values of vervet monkeys (*Chlorocebus aethiops sabaeus*) [J]. *Contemp Top Lab Anim Sci*, 2005, 44(1): 29-34.
- [12] 代解杰, 唐东红, 鲁帅尧, 等. 人工饲养条件下恒河猴血液学、血液生化正常参考值测定及分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2000, 8(4): 224-230.
- [13] 王冬平, 隋丽华, 洪宝庆, 等. 食蟹猴与猕猴血液生理和生化指标的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2007, 17(7): 400-402.
- [14] 潘东升, 刘芳, 苗玉发, 等. Beagle 犬和食蟹猴血清生化和血液学指标的测定 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(1): 19-21.
- [15] 曾宪成, 马璟, 杨琛懋, 等. 食蟹猴血液学及血清生化指标日间节律性变化 [J]. *中国比较医学杂志*, 2010, 20(6): 43-48.

[收稿日期]2017-01-05