

王蕾,吴旭颖,高玉龙,等. 两个CBA亚系流产模型数据比较[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(6): 76-79, 92.

Wang L, Wu XY, Gao YL, et al. Comparison of abortion model data between two CBA mouse sub-strains [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(6): 76-79, 92.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.06.011

两个CBA亚系流产模型数据比较

王蕾¹, 吴旭颖¹, 高玉龙¹, 张文明¹, 李斌¹, 刘云波^{1,2*}

(1. 北京华阜康生物科技股份有限公司, 北京 102202; 2. 中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京 100021)

【摘要】 目的 观察了CBA/J和CBA/Ola两个亚系流产模型数据。10~16周龄CBA/J胚胎吸收率为12.8%~22.2%高于10~16周龄CBA/Ola胚胎吸收率的11.4%~13.0%。方法 设计CBA/J和CBA/Ola两个亚系的流产模型实验,每个亚系分别6组动物互配并进行观察。六组中三组为10周龄CBA组,另外三组为16周龄CBA组。每个周龄三组包括CBA自交组,BALB/c和CBA互配组和DBA2和CBA互配组。结果 CBA/J比CBA/Ola成模率高,且16周雌性CBA/J造模成功率比10周雌性CBA/J高。CBA/J和CBA/Ola亚系本品系互配都存在胚胎吸收问题,原因还有待于进一步研究。结论 16周CBA/J雌鼠更适用于流产模型造模。

【关键词】 CBA/Ola;CBA/J;CBA;流产模型;亚系

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 06-0076-04

Comparison of abortion model data between two CBA mouse sub-strains

WANG Lei¹, WU Xuying¹, GAO Yulong¹, ZHANG Wenming¹, LI Bin¹, LIU Yunbo^{1,2*}

(1. Beijing HFK Bioscience CO., LTD, Beijing 102202, China.

2. Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS), Beijing 100021)

【Abstract】 Objective To observe the abortion model data of the CBA/J and CBA/Ola sub-strains of mice. The Embryo resorption rate of 10~16 weeks CBA/J mice was 12.8%~22.2% higher than 11.4%~13.0% of 10~16 weeks CBA/Ola mice. **Methods** Abortion model experiments on CBA/J and CBA/Ola mice were designed. Each murine subline was matched with six groups of animals and observed. Three of the six groups are 10-week-old female CBA groups and three are 16-week-old female CBA groups. Three groups for each week of age include the mutual mating of CBA, BALB/c and CBA, DBA2 and CBA. **Results** CBA/J mice have a higher Embryo resorption rate compared with CBA/Ola mice, and the Embryo resorption rate of 16-week-old female CBA/J mice is higher than the rate of 10-week-old female CBA/J. Both the CBA/J and CBA/Ola murine sublines have embryo absorption problems in their mutual mating, the reasons for which need to be further studied. **Conclusions** 16-week-old CBA/J female mice are more suitable for the establishment of abortion models.

【Keywords】 CBA/ola; CBA/J; CBA; abortion model; sub-strains

CBA和DBA/2是较常用的两个小鼠近交品系。CBA(雌性)和DBA/2(雄性)交配组合具有易患反复自然流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)的

特点。近年来这一组为RSA动物模型,其重要价值在国际上正逐步引起重视,近些年在国内逐渐引起关注^[1],参考文献报道CBA(雌性)和DBA/2(雄性)

[作者简介] 王蕾(1978—),女,高级兽医师,研究方向:实验动物学。E-mail: wanglei@hfkbio.com

[通信作者] 刘云波(1962—),男,研究员,研究方向:实验动物学。E-mail: liuyunbo@hfkbio.com

交配胚胎吸收率 21%~56%^[2],各家文献差异较大。

本公司有两种 CBA 品系,一种 CBA/J,一种 CBA/Ola。CBA/J 小鼠是 1920 年由 Strong 用 Bagg 白化雌鼠与 DBA 雄性鼠交配后进行近交培育,1947 年引到 Andervont 处,1948 年引到 JAX^[3]。CBA/Ola 小鼠是 1983 年从 JAX 引到 OLAC,1985 年由 OLAC 引到 IMLAS^[4]。CBA/Ola 亚系虽然来源于 CBA/J,但是通过长期的选育形成不同的亚系。

本研究对 CBA/J 和 CBA/Ola 小鼠的自然流产模型造模情况进行观察比较。自然流产是指胚胎或胎儿因某种原因自动脱离母体,终止妊娠而排出。胚胎吸收是由于小鼠子宫的特殊结构,由于某种原因胎儿停育,而不会出现出血和流产,但是胎儿被母体吸收,却不影响其他胚胎的妊娠。根据小鼠这种特殊生理情况,研究小鼠自然流产模型造模情况主要观察胚胎吸收率、胚胎吸收数量、胎盘直径大小和体积等^[5]。

1 材料和方法

1.1 实验动物

流产模型实验动物为 SPF 级,详见表 1,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供[SCXK(京)2019-0008]。实验小鼠均饲养在北京华阜康生物科技股份有限公司屏障环境(隔离器)内[SYXK(京)2019-0022],隔离环境为洁净度 5 级,温度(24±2)℃,相对湿度(50±10)%,换气次数为每小时 20 次,明暗周期为 12 h:12 h,动物自由采食和饮水,饲料为华阜康生产的⁶⁰Co 辐照灭菌的鼠繁殖料 1035。所有动物实验均经过北京华阜康实验动物伦理委员会审批(HFKIACUC-20190321),符合动物伦理学要求和实验动物保护的相关规定,实验动物饲养和实验过程中做到实验动物使用的 3R 原则,并给予实验动物人道关怀。

饮用水为酸化过滤自来水(pH=2.7~3.0)并经高压蒸汽灭菌 30 min(121℃)。所用笼具、垫料、水瓶等物品均经过高压蒸汽灭菌 30 min(132℃),每周更换垫料 1 次,进出隔离器的物品均应进行消毒处理,操作严格遵守隔离系统规程。

1.2 主要试剂与仪器

75%乙醇购自山东利尔康医疗科技股份有限公司,批号 20210101。

Canon 单反数码相机,型号 EF-S 18-55 mmU;上匠游标卡尺(0~150 mm),型号 SJ455515,用于测量胎盘的直径;手术器械,用于解剖怀孕 14 d 小鼠。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

为了研究两个 CBA 亚系(CBA/J 和 CBA/Ola)流产模型的造模情况,分别对 2 个周龄(10 周和 16 周)雌鼠的造模情况进行研究。每个周龄又设计 3 组,分别为 1 组:本品系互配组 CBA ♂×CBA ♀;2 组:流产模型对照组 BALB/c ♂×CBA ♀;3 组:流产模型实验组 DBA2 ♂×CBA ♀。

1.3.2 实验步骤

雌性 CBA 小鼠饲养在雄鼠脏垫料中,2~3 d 后挑选发情的雌性小鼠按照上述分组合笼。详细操作为:实验当天下午挑选发情的 CBA/J 和 CBA/Ola 雌鼠,17:00 放入雄鼠的笼盒中,互配 10~12 h 检查阴道栓。见栓为怀孕 0.5 d。继续按照互配分组饲养 13.5 d 后,进行解剖、拍照、胎盘直径测量。对各组动物见栓及怀孕、胚胎吸收情况进行统计;对各组胎盘直径进行测量和统计分析及胚胎吸收的判定。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析。数值以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

表 1 流产模型实验动物

Table 1 Experimental animals of abortion model

品系 Strain of mice	性别 Sex of mice	周龄(周) Age of mice(week)	小鼠数量 Number of mice	体重(g) Weight of mice
CBA/J	♂	10	10	28.14±1.34
	♀	10	50	20.85±1.35
	♀	16	30	25.46±2.56
CBA/Ola	♂	10	10	28.20±1.31
	♀	10	50	21.02±1.40
DBA2	♂	10	20	23.10±2.01
	♂	10	20	25.12±1.63

2 结果

2.1 各实验组见栓、怀孕、胚胎吸收情况

由于挑选发情雌鼠时间跨度长(本实验从 2021 年 3 月 24 日开始,2021 年 5 月 20 日结束),所以 10 周组数据为 9~15 周雌鼠数据,16 周组数据为 15~21 周雌鼠数据。各组配动物见栓及怀孕、胚胎吸收情况见表 2。

2.2 各实验组胚胎直径及体积数据分析

解剖观察 CBA/J 与 CBA/Ola 各周龄雌鼠胚胎吸收外观特征相似。剖开可见未完全吸收的胎盘,胚胎已经消失。正常 14 d 胚胎全部大小基本一致(长:0.8~1 cm;宽 0.4~0.5 cm),但是胚胎长

和宽也会随着胎儿数量的多少而稍微有些变化,观察到如果胎儿数量多则胚胎偏小,数量少则胚胎偏大。

用游标卡尺测量胎盘直径,并做好记录,用组间单因素方差分析检验对各组胎盘的直径数据进行测量和统计分析,各组之间比较,10 周 CBA/Ola 2 组胎盘直径显著长于 10 周 CBA/Ola 1 组和 3 组($P < 0.05$);16 周 CBA/Ola 2 组胎盘直径显著长于 16 周 CBA/Ola 1 组和 3 组($P < 0.05$)。其余组间未见显著差异(见表 3)。有报道胎盘体积 = $\pi d^3/6$,小于同孕龄胎鼠胎盘单位平均体积减去 2 个标准差者判为体积明显缩小,判定为胚胎丢失^[5]。按照上述公式计算出胎盘体积(见表 3)。

表 2 各组配动物见栓及怀孕、胚胎吸收情况
Table 2 Embolism, pregnancy and embryo absorption in each group of mice

流产模型组 Abortion model groups	共配只数 Total number of breeding	怀孕只数 Number of pregnancies	见栓只数 Number of mice with vaginal plug	14 d 胚胎数 Number of embryos of 14 days	胚胎吸收数 Number of absorbed embryos	胚胎吸收率(%) Embryo absorption rate	
10 周 CBA/J 10 weeks CBA/J	1 组 First group	17	6	0	38	4	10.5
	2 组 Second group	25	5	5	31	4	12.9
	3 组 Third group	31	6	1	39	5	12.8
16 周 CBA/J 16 weeks CBA/J	1 组 First group	9	4	1	34	8	23.5
	2 组 Second group	28	4	4	34	3	8.8
	3 组 Third group	14	4	0	36	8	22.2
10 周 CBA/Ola 10 weeks CBA/Ola	1 组 First group	28	3	1	27	1	3.7
	2 组 Second group	27	7	6	57	4	7.0
	3 组 Third group	19	8	2	54	7	13.0
16 周 CBA/Ola 16 weeks CBA/Ola	1 组 First group	19	3	0	23	0	0
	2 组 Second group	27	8	2	56	4	7.1
	3 组 Third group	13	5	1	35	4	11.4

表 3 各组正常胎盘直径及体积数据
Table 3 Nomal placenta diameter and volume datas of each group

流产模型组 Abortion model groups	正常胎盘直径(mm) Nomal placenta diameters	正常胎盘体积(mm ³) Nomal placenta volume	
10 周 CBA/J 10 weeks CBA/J	1 组 First group	6.38±0.50	138.17±35.29
	2 组 Second group	6.59±0.51	152.68±36.75
	3 组 Third group	6.75±0.59	165.00±42.92*
16 周 CBA/J 16 weeks CBA/J	1 组 First group	6.86±0.86	177.02±62.71
	2 组 Second group	6.73±0.45	161.96±33.97
	3 组 Third group	6.67±0.43	156.98±31.28
10 周 CBA/Ola 10 weeks CBA/Ola	1 组 First group	6.40±0.65	141.54±39.95
	2 组 Second group	6.90±0.53*	175.96±42.08*
	3 组 Third group	6.14±0.33	122.19±20.41
16 周 CBA/Ola 16 weeks CBA/Ola	1 组 First group	6.37±0.50	138.15±34.66
	2 组 Second group	6.73±0.60*	163.13±48.01*
	3 组 Third group	6.39±0.56	139.48±38.32

注:同组比较,* $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the mice of the same group, * $P < 0.05$.

表 4 各组胚胎吸收胎盘直径及胎盘体积数据
Table 4 Absorbed placenta diameter and volume datas of each group

流产模型组 Abortion model groups		胚胎吸收胎盘直径(mm) Absorbed placenta diameters	胚胎吸收胎盘体积(mm ³) Absorbed placenta volume
	1 组 First group	3.68±0.81	30.07±24.77
10 周 CBA/J	2 组 Second group	3.09±0.41	16.24±6.82
10 weeks CBA/J	3 组 Third group	3.26±0.40	18.91±8.52
	1 组 First group	3.24±0.47	18.92±8.23
16 周 CBA/J	2 组 Second group	3.13±0.17	16.24±3.12
16 weeks CBA/J	3 组 Third group	3.97±1.08*	40.15±33.05*
	1 组 First group	5.22(一个 One)	74.44(一个 One)
10 周 CBA/Ola	2 组 Second group	3.21±0.25	17.63±4.90
10 weeks CBA/Ola	3 组 Third group	3.12±0.56	17.35±9.48
	1 组 First group	/	/
16 周 CBA/Ola	2 组 Second group	2.97±0.32	14.18±5.05
16 weeks CBA/Ola	3 组 Third group	2.75±0.48	11.87±7.45

注:同组比较, * $P<0.05$ 。

Note. Compared with the mice of the same group, * $P<0.05$.

通过胎盘体积计算和统计,10 周 CBA/J 3 组显著高于本组其他两组($P<0.05$),10 周 CBA/Ola 2 组显著高于本组其他两组($P<0.05$),16 周 CBA/Ola 2 组显著高于本组其他两组($P<0.05$)(见表 3)。有报道指出新生儿出生体重正常者较低体重者,其胎盘体积较大^[6]。胎盘体积可能与胎儿数量及体重有关。

对吸收胎盘的直径进行数据分析,只有 16 周 CBA/J 3 组胚胎吸收胎盘直径显著高于本组其他组($P<0.05$),其他各组间差异不显著(见表 4)。对胚胎吸收胎盘平均体积进行数据分析,只有 16 周 CBA/J 3 组胚胎吸收胎盘体积显著高于本组其他组($P<0.05$)。

从表 4 数据可以看出,参考文献^[5]中的判断方法可取。但是发现 10 周 CBA/Ola1 组胚胎吸收胎盘直径数据计算的胎盘体积按照文献判断方法,体积大于平均值减去两个标准差,本品系互配发现的胚胎吸收情况,原因可能与 CBA 品系的背景基因有关,还需要进一步研究。

3 讨论

与雄性 DBA/2 小鼠(H-2d)交配后的雌性 CBA 小鼠(H-2k)的流产率高达 20%~30%,而且这种流产具有隐性、反复性和父系特异性的特征;在同为 H-2k×H-2d 交配方式的 CBA×BALB/c 中,孕鼠的胚胎吸收率仅为 5%~10%。这个发现为深入研究妊娠这一复杂生理现象提供了两个经典的动物模型^[1]。

大多关于自然流产模型的一般认为母胎界面的免疫异常导致的^[7-13]。而且通过观察发现,CBA/J 雌鼠比 CBA/Ola 雌鼠造模率高。CBA/J 16 周雌鼠比 CBA/J 10 周雌鼠造模率高,这与相关文献报道一致^[14]。此外有报道指出环境越洁净,造模率越高^[15]。造模第一胎流产率小,第二胎流产率增加^[2]。但是一般实验很少用二胎来进行。

还有报道指出 DBA2 存在天然的 Klr1(CD94) 缺失,笔者认为与流产模型的造模机理有一定的关系^[14]。

本研究进一步探讨两个 CBA 两个亚系流产模型数据比较,流产模型的造模机理较复杂,还需要进一步研究,本文为科学研究提供快速建模的数据支持。

参考文献:

- [1] 朱晓勇, 李大金, 孙晓溪. 正常妊娠与自然流产小鼠模型母胎界面细胞因子表达特征的比较 [J]. 生殖医学杂志, 2003, 12(5): 283-287.
- [2] Bobé P, Kiger N. Immunogenetic studies of spontaneous abortion in mice. III. Non-H-2 antigens and gestation [J]. J Immunogenet, 1989, 16(3): 223-231.
- [3] The Jackson Laboratory. CBA Strain (000656) Details [EB/OL]. [2021-04-26]. <https://www.jax.org/strain/000656>.
- [4] 中国生物科技信息. 常用实验动物信息 [EB/OL]. [2006-08-26]. <http://www.bioon.com.cn/protocol/showarticle.asp?newsid=2203>.
- [5] 赵爱民, 林其德, 鲍世民, 等. 自然流产小鼠模型的胚胎丢失率 [J]. 上海实验动物科学, 1999, 19(4): 220-221.

(下转第 92 页)

invasion is controlled by dactylopodia [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(18): e2023829118.

- [45] Flicek P, Ahmed I, Amode MR, et al. Ensembl 2013 [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41: 48-55.
- [46] Gutzman JH, Sahu SU, and Kwas C. Non-muscle myosin IIA and IIB differentially regulate cell shape changes during zebrafish brain morphogenesis [J]. Dev Biol, 2015, 397(1): 103-115.
- [47] Huang Y, Wang X, Wang X, et al. Nonmuscle myosin II-B (myh10) expression analysis during zebrafish embryonic development [J]. Gene Expr Patterns, 2013, 13(7): 265-270.
- [48] Müller T, Rumpel E, Hradetzky S, et al. Non-muscle myosin

IIA is required for the development of the zebrafish glomerulus [J]. Kidney Int, 2011, 80(10): 1055-1063.

- [49] Guo S, Meng L, Liu H, et al. Trio cooperates with Myh9 to regulate neural crest-derived craniofacial development [J]. Theranostics, 2021, 11(9): 4316-4334.
- [50] Casalou C, Seixas C, Portelinha A, et al. Arl13b and the non-muscle myosin heavy chain IIA are required for circular dorsal ruffle formation and cell migration [J]. J Cell Sci, 2014, 127(12): 2709-2722.

[收稿日期]2022-01-24

(上接第 79 页)

- [6] 钟惠敏, 李霞, 王销颖, 等. 胎盘体积及胎盘血流灌注的变化与胎儿发育的关系 [J]. 广东医学, 2018, 39(4): 559-561.
- [7] 米亚英. 原因不明自然流产发病机制的研究 [J]. 中国医药科学, 2011, 1(1): 24-25, 54.
- [8] 姜培娟, 林其德, 赵爱民, 等. IL-4 与 IL-10 联合免疫对趋化因子受体 CCR3、CCR5、CXCR 3 的选择性诱导对自然流产模型小鼠胚胎丢失率的影响 [J]. 现代妇产科进展, 2009, 18(5): 354-358.
- [9] 林羿, 曾耀英, 狄静芳. 自发性流产 CBA/J×DBA/2 小鼠母-胎界面 DX5+CD69⁺细胞的浸润 [J]. 暨南大学学报, 2005, 26(4): 508-512, 529.
- [10] 林羿, 曾耀英, 曾山, 等. 在反复自然流产模型 CBA/J×DBA/2 小鼠血清中未检测出抗精子抗体 [J]. 暨南大学学报, 2002, 23(3): 121-124.
- [11] 徐慧, 王玉兰, 宋晓晖, 等. 维生素 D3 对自然流产模型小鼠胚胎丢失率及外周血免疫细胞的影响 [J]. 解剖学报, 2017, 48(5): 595-599.

- [12] Xu WM, Xiao ZN, Wang XB, et al. IL-17 induces fetal loss in a CBA/J×BALB/c mouse model, and an anti-IL-17 antibody prevents fetal loss in a CBA/J×DBA/2 Mouse Model [J]. Am J Reprod Immunol, 2016, 75(1): 51-58.
- [13] Brown LY, Bonney EA, Raj RS, et al. Generalized disturbance of DNA methylation in the uterine decidua in the CBA/J×DBA/2 mouse model of pregnancy failure [J]. Biol Reprod, 2013, 89(5): 120.
- [14] Shin DL, Pandey AK, Ziebarth JD, et al. Segregation of a spontaneous klr1 (CD94) mutation in DBA2 mouse substrain [J]. G3 (Bethesda), 2014, 5(2): 235-239.
- [15] Ho HN, Chen SU, Yang YS, et al. Age, environment, and lymphocyte immunization influence the spontaneous resorption rate in the CBA/J×DBA/2J mouse model [J]. Am J Reprod Immunol, 1994, 31(1): 47-51.

[收稿日期]2021-09-03