

后,能使移植性肿瘤的发生延迟,发生率降低,并且延长实验动物的寿命,tuftsins 脂质体药物载体能够增强抗肿瘤药物的抑制肿瘤细胞增殖作用^[5,6]。进一步研究指出,tuftsins 及其同系物具有选择性的抗肿瘤活性,并且可能通过抑制 DNA 拓扑异构酶的活性发挥其抗肿瘤的作用^[2]。在临床检测中发现,tuftsins 可以促进白细胞肿瘤细胞吞噬,并且将其标记微颗粒的表面可以用来抗炎治疗^[2,7,8]。

丝裂霉素(MMC)属于抗生素类抗肿瘤药物,破坏 DNA 的结构和功能,而 tuftsins 可能抑制 DNA 拓扑异构酶的功能,两药可以互补。tuftsins 与丝裂霉素联用在 SW1990 和 H460 细胞中,有明显的增效作用。力达霉素本身就具有强烈的杀伤肿瘤细胞的活性,tuftsins 与力达霉素(LDM)联用在 SW1990 细胞中,有明显的增效作用。tuftsins 与抗肿瘤药物(MMC 和 LDM)连用的结果显示,在特定的肿瘤细胞和某种浓度下,tuftsins 可以增效抗肿瘤药物的抗肿瘤细胞增殖活性。

力达霉素在低剂量时可以迅速的激活线粒体凋亡通路促使细胞凋亡^[9]。力达霉素由 1 个辅基蛋白和 1 个发色团组成,发色团是活性部分,辅基蛋白起保护发色团作用,并且这两个部分可以拆分,这样的性质力达霉素可以作为弹头药物。本研究报道了力达霉素辅基蛋白(LDP)在高剂量下在体外有一定抗肿瘤细胞增殖作用(图 5),并且 tuftsins 与力达霉素辅基蛋白的融合蛋白 LDP-TF 比 LDP 抗肿瘤细胞增殖作用明显增强(图 4)。强化融合蛋白 LDM-TF 抗肿

瘤细胞增殖作用也有明显增强(图 5)。本研究表明 tuftsins 是一种较好的化疗增强剂,其作用机制有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Jain S, Amiji M. Tuftsins - modified alginate nanoparticles as a noncondensing macrophage - targeted DNA delivery system[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(4):1074 - 1085
- 2 Kukowska - Kaszuba M, Dzierzbicka K, Serocki M, *et al.* Solid phase synthesis and biological activity of tuftsins conjugates[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(7):2447 - 2454
- 3 陈淑珍,甄永苏,邵荣光. 力达霉素抗肿瘤作用及其分子机制研究新进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2010(6):401 - 407
- 4 郭晓芳,朱小飞,钟根深,等. 以人表皮生长因子受体 2 为靶点的强化融合蛋白 LDP-Hr-AE 的构建及抗肿瘤活性研究[J]. *中国药理学杂志*, 2012(12):941 - 947
- 5 Nishioka K. Anti - tumour effect of the physiological tetrapeptide, tuftsins[J]. *Br J Cancer*, 1979, 39(3):342 - 345
- 6 Khan A, Khan AA, Dwivedi V, *et al.* Tuftsins augments antitumor efficacy of liposomized etoposide against fibrosarcoma in Swiss albino mice [J]. *Mol Med*, 2007, 13(5 - 6):266 - 276
- 7 Constantopoulos A, Likhite V, Crosby WH, *et al.* Phagocytic activity of the leukemic cell and its response to the phagocytosis - stimulating tetrapeptide, tuftsins[J]. *Cancer Res*, 1973, 33(6):1230 - 1234
- 8 Xu Y, Zhu J, Xiang K, *et al.* Synthesis and immunomodulatory activity of [60] fullerene - tuftsins conjugates [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(36):9940 - 9949
- 9 邱强,王真,蒋建明,等. 力达霉素经线粒体依赖通路介导细胞凋亡[J]. *药理学学报*, 2007, 42(2):132 - 138

(收稿日期:2013 - 01 - 06)

(修回日期:2013 - 01 - 25)

F 基因型腮腺炎减毒活疫苗的临床前安全性评价

梁 燕 张颖丽 廖 芸 刘龙丁 姬秋彦 王丽春 崔平芳 赵红玲 王晶晶 李琦涵

摘 要 **目的** 观察 F 基因型腮腺炎减毒活疫苗的急性毒性及长期毒性试验效果。**方法** 取前期制备的 F 基因型腮腺炎减毒活疫苗进行大鼠急性毒性试验,之后进行临床症状监测及大体病理学检查;并采用恒河猴进行长期毒性试验,之后观察试验动物的临床症状,进行血液学、生化检测、CD4⁺、CD8⁺ 细胞比例检测、病毒血症检测、病毒在组织器官的分布检测以及病理检查。**结果** 急性毒性试验表明给予大鼠相当于人用剂量的 1200 倍剂量时,无论是临床症状监测还是大体病理学检查,均无明显异常;而长期毒性试验结果表明,恒河猴 3 次免疫 8 倍人用剂量时,疫苗对动物临床症状、血液学和血清生化指标无明显影响,

基金项目:国家“863”计划项目(2012AA02A404);“十二五”重大新药创制国家科技重大专项基金资助项目(2012ZX09101319);国家科技重大专项基金资助项目(2009ZX10004 - 308);云南省应用基础研究重点项目(2008CC018)

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所(梁燕、廖芸、刘龙丁、姬秋彦、王丽春、崔平芳、赵红玲、王晶晶、李琦涵);100176 北京,中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心(张颖丽)(注:梁燕和张颖丽为共同第一作者)

通讯作者:李琦涵,电子信箱:Imbecams.LQ@gmail.com

CD4⁺、CD8⁺ 细胞比值亦无明显改变,动物的血液及组织器官中均未检出腮腺炎病毒 RNA,各组织器官未见明显大体病理学改变。**结论** F 基因型腮腺炎减毒活疫苗的急性毒性试验及长期毒性试验均无明显异常,充分验证了疫苗的安全性,从而为疫苗进入临床试验提供了数据支持并奠定了基础。

关键词 F 基因型 腮腺炎减毒活疫苗 急性毒性试验 长期毒性试验

Preclinical Safety Evaluation of F Genotype Live Attenuated Mumps Vaccine. Liang Yan, Zhang Yingli, Liao Yun, Liu Longding, Ji Qiuyan, Wang Lichun, Cui Pingfang, Zhao Hongling, Wang Jingjing, Li Qihan. Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Yunnan 650118, China

Abstract Objective To observe the effect of acute toxicity and long-term toxicity test for F genotype live attenuated mumps vaccine. **Methods** Acute toxicity test was taken in rats with the pre-preparation of F genotype live attenuated mumps vaccine. Then we monitored the clinical symptoms and examined the general pathology. Long-term toxicity test was carried out with rhesus monkeys, and the clinical symptoms, hematological, biochemical detection, CD4⁺, CD8⁺ cell ratio, viremia detection, virus distribution of tissues and organs and pathology detection were studied. **Results** Acute toxicity test showed there were no obvious abnormalities whether in clinical symptoms or in gross pathological examination when the rats were given the dose equivalent to 1200 times the human dose. Long-term toxicity test showed that when third immunized the rhesus monkeys with the dose equivalent to 8 times of the human dose, there was no significant effect against animal clinical symptoms, hematology and serum biochemical detection, and there was no obvious change in CD4⁺ and CD8⁺ cell ratio. Mumps virus RNA was not detected in blood, tissues and organs, as well as there were no significant general pathological changes in tissues and organs. **Conclusion** The safety of the F genotype mumps live attenuated vaccine was fully verified when there were no significantly abnormal issues in the acute toxicity test and long-term toxicity tests, which provided data and laid the foundation for the vaccine entering the clinical trials.

Key words F genotype; Mumps live attenuated vaccine; Acute toxicity test; Long-term toxicity tests

流行性腮腺炎是由腮腺炎病毒引起的可导致全身多系统多器官感染的传染性疾病^[1,2]。引起流行性腮腺炎病原体为腮腺炎病毒,其可分为 A~M 共 13 个基因型^[3];国际通用的 Jeryl-Lynn 株及我国使用的 S79 株减毒毒种均属于 A 基因型,而当前我国流行的腮腺炎病毒株主要为 F 基因型^[4~6]。研究发现,不同基因型之间的抗原交叉性是有限的,这也是在大规模应用了减毒活疫苗的今天,腮腺炎的发病率依然逐年上升的可能原因之一^[7,8]。由此,中国医学科学院医学生物学研究所研究开发了流行基因型(F 基因型)腮腺炎减毒活疫苗(SP-A 株)。在明确了其具有良好的免疫原性及安全性的前期工作基础之上,为了进一步有效验证安全性,并为进入临床试验奠定基础,根据《生物制品规程》的相关要求,考察了该疫苗在大鼠体内的急性毒性以及恒河猴体内的重复给药毒性研究^[9,10]。

材料与方法

1. 细胞和病毒: Vero 细胞和人二倍体细胞 KMB17 株均由中国医学科学院医学生物学研究所提供,腮腺炎病毒 SP-A 株于 2005 年分离,经全基因测序明确为 F 基因型。

2. SP-A 株腮腺炎减毒活疫苗:取 SP-A 株腮腺炎工作毒种接种 KMB17 细胞株,收获病毒液经冻干后制备成为腮腺炎减毒活疫苗成品,并经检定合格,规格为 0.5ml 注射用水复溶,含病毒效价 $\geq 4.0 \log \text{CCID}_{50}/\text{ml}$ 。

3. 急性毒性试验:取 30 只 6~7 周龄 SD 大鼠,雌雄各半,随机分为 3 组,分别为阴性对照组、疫苗低剂量组和疫苗高剂量组,单次皮下注射给药。其中,疫苗低剂量组每只接种单剂人用剂量;高剂量组每只接种 4 倍人用剂量;根据大鼠体重 200g 折算,分别相当于人用剂量的 300 倍、1200 倍;阴性对照组则每只给予 0.5ml 生理盐水。给药后 2h 内观察实验动物的姿势、反应状态、神经活动、食欲、被毛、眼睛、耳、口、鼻、四肢、呼吸、粪便、注射等临床症状。随后继续观察至第 15 天,观察动物的临床症状、活动等。实验期间定期对动物进行体重测定。第 15 天对全部实验动物进行大体病理学检查。

4. 长期毒性试验:(1) 动物分组和给药方案:恒河猴 24 只,由中国医学科学院医学生物学研究所灵长类中心一部提供,体重 2~4kg,年龄 2~3 岁,雌雄各半,检疫 19 天,随机分为 3 组,疫苗低剂量组、疫苗高剂量组和阴性对照组,皮下注射给药,0、2、4 周各给药 1 次,共 3 次,设 4 周恢复期。其中,疫苗低剂量组每只接种 2 倍人用剂量;高剂量组每只接种 8 倍人用剂量;阴性对照组则每只给予 0.5ml 生理盐水。(2) 观察指标:每天对动物进行观察,具体观察外观、活动状况、神经反应、呼吸状态、姿势、食欲、粪便、尿等有无异常。每次给药次日观察注射部位有无发红、肿胀、化脓、坏死等异常反应。每天进行摄食量测定,每周测定 1 次体重。于检疫期、首次给药后 2 周进行心电图测定、尿检查。检疫期、首次和末次给药后约 48h、恢复期第 2 周、第 4 周采血进行血液学、血清生化检查。检疫期、末次给药结束、恢复期结束进行眼科检查。首

次和末次给药后进行病毒血症的检测。末次给药结束和恢复期结束时进行 CD4⁺、CD8⁺ 细胞测定,对动物进行剖检,进行病理学检查,骨髓分类计数以及病毒组织分布测定。(3) CD4⁺、CD8⁺ 细胞比例检测方法:于末次给药结束和恢复期结束时取抗凝血制备检测样本,用流式细胞仪收集一定数量的细胞,计数 CD3⁺CD4⁺ 细胞和 CD3⁺CD8⁺ 细胞个数,用适当的软件分析 CD3⁺CD4⁺ 细胞和 CD3⁺CD8⁺ 细胞占淋巴细胞的比例,并计算二者比值。标记抗体分别为 PE Mouse Anti - Human CD4, FITC Mouse Anti - Human CD8, PerCP Mouse Anti - Human CD3, 购自 BD 公司。(4) 病毒血症检测:分别于首次给药前,首次给药后 1、3、8、24、48、335h,末次给药前,末次给药后 1、3、8、24、48、335h,恢复期结束前取疫苗低、高剂量组抗凝血采用实时荧光定量 PCR 技术进行病毒血症检测。①提取血液病毒 RNA。TRNzol - A⁺ 购自天根(批号: J8413)。具体步骤参照说明书进行;②RT - PCR 试验:为 Taqman 探针法。根据 Genbank 中登录的腮腺炎病毒基因的 CDNA 序列(DQ649478),利用 Primer 5.0 软件设计 HN 片段的特异引物及探针, Blast 作同源性分析,引物及探针序列见表 1。RT - PCR 试验采用 TaKaRa One Step PrimescriptTM RT - PCR Kit, 按说明书操作(试剂盒批号: DRR064A)。(5) 组织病理学检查:于末次给药结束和恢复期结束时,各处死一半试验动物。对包括脑、垂体、眼球、视神经、甲状腺(含甲状旁腺)、颌下腺、腮腺、脊髓(颈、胸、腰段)、胸腺、胸骨、心脏、主动脉、舌、气管、食道、肺、肝脏、肾脏、肾上腺、脾脏、胰脏、胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、直肠、结肠、睾丸、附睾、前列腺、卵巢、子宫、阴道、膀胱、坐骨神经、肌肉、皮肤、乳腺(仅雌性)、腋窝淋巴结、肠系膜淋巴结、腹股沟淋巴结、注射部位(皮肤、肌肉)、病变部位在内的组织器官进行病理学检查,固定后的组织经修块取材,逐级乙醇脱水,滑动切片机切片(3μm),经 HE 染色,光镜下进行检查。(6) 病毒组织分布检测:于进行组织病理学检查同时,取疫苗低、高剂量组动物的组织器官(包括心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏、脑、睾丸、附睾、子宫、卵巢、腮腺、腋窝淋巴结、肠系膜淋巴结、腹股沟淋巴结)进行取材,采用实时荧光定量 PCR(实时 quantitative PCR, RT - PCR)技术对组织中腮腺炎病毒 RNA 进行测定。①提取组织病毒 RNA: TRNzol - A⁺ 购自天根(批号: J8413)。将组织初次匀浆后具体操作步骤参照说明书进行;②RT - PCR 试验:同长期毒性试验中的病毒血症检测的 RT - PCR 试验。

表 1 RT - PCR 引物及探针序列

上游引物 HN1f	5' - AACTCTTCACAATATCAGAC - 3'
下游引物 HN1r	5' - CACCTAAAGTGACAATGACT - 3'
探针 (FAM +)	5' FAM - CTGACAAGAAGACATTCCGAAC -
HNprobe	CTGCTTCC - TAMRA - 3'

结 果

1. 急性毒性研究:临床症状观察结果显示各组动物在给药前后均未见任何异常症状。观察至第 15 天,全部动物无异常症状,无死亡,体重均保持增长趋势。于给药后 15 天的各只动物剖检亦未见明显异常。

2. 重复给药毒性研究:(1) 临床症状及主要指标结果:自接种疫苗后,各组动物临床症状及主要指标均无异常(图 1,表 2)。(2) CD4⁺、CD8⁺ 细胞比例及其比值测定:结果显示,各组动物无统计学意义上的显著性差异(表 3)。(3) 病毒血症检测:结果显示各个时间点的疫苗低、高剂量组的全部动物血液中均未检出腮腺炎病毒 RNA。(4) 组织病理学检查:给药期结束和恢复期结束,各组实验动物各组织器官未见明显大体病理学改变。镜检结果显示各组织器官均未见明显组织病理学改变或为背景性、偶发性或自发性的病理变化(表 4)。(5) 病毒组织分布检测:结果显示无论是给药期结束还是恢复期结束时,疫苗低、高剂量组动物的各组织器官均未检出腮腺炎病毒 RNA。

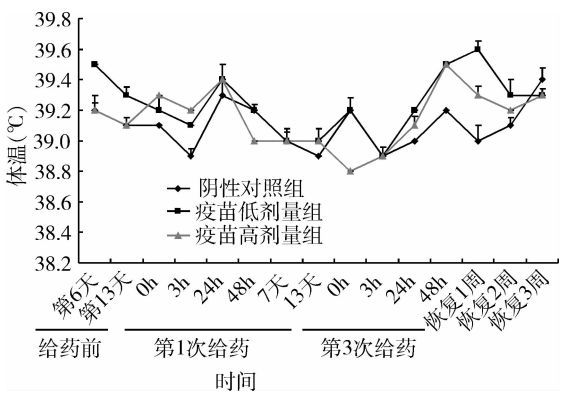


图 1 重复给药毒性研究各组动物体温变化

表 2 恒河猴重复给药毒性研究临床症状及主要指标结果

组别	动物数 (n)	临床 症状	注射部 位反应	摄食量	体重	体温	心电图 监测	眼科 检查	尿生化 检测	血液学指 标检测	血生化 检测	骨髓细胞 分类检测
阴性对照组	8	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	无异常	无异常	无异常	无异常
疫苗低剂量组	8	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	无异常	无异常	无异常	无异常
疫苗高剂量组	8	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	无异常	无异常	无异常	无异常

表 3 CD4⁺、CD8⁺ 细胞比例及其比值测定统计结果($\bar{x} \pm s$)

组别	检疫第 13 天				给药 4 周				恢复期 3 周			
	动物数	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ / CD8 ⁺	动物数	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ / CD8 ⁺	动物数	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ / CD8 ⁺
阴性对照组	8	47.52 ± 8.21	42.11 ± 7.29	1.18 ± 0.37	8	51.98 ± 7.87	36.36 ± 6.60	1.51 ± 0.51	4	51.29 ± 6.57	34.71 ± 5.48	1.52 ± 0.40
		46.78 ± 8.49	41.05 ± 6.82	1.18 ± 0.34		52.40 ± 8.95	34.99 ± 6.20	1.59 ± 0.61		49.22 ± 6.01	36.90 ± 7.49	1.40 ± 0.41
疫苗低剂量组	8	39.62 ± 10.92	48.43 ± 10.65	0.90 ± 0.46	8	46.20 ± 9.85	41.57 ± 10.14	1.22 ± 0.51	4	45.05 ± 9.04	39.68 ± 6.57	1.18 ± 0.35

表 4 重复给药毒性研究组织病理学检查

组织器官	异常所见	病变程度	给药期(4 只/组)			恢复期(4 只/组)		
			阴性	疫苗低	疫苗高	阴性	疫苗低	疫苗高
			对照组	剂量组	剂量组	对照组	剂量组	剂量组
腮腺	间质,单核细胞浸润,多灶	+	4/4	4/4	3/4	4/4	4/4	2/4
肝脏	小肉芽肿,单灶/多灶	+	2/4	2/4	2/4	2/4	1/4	1/4
心脏	间质,单核细胞浸润,单灶/多灶	+	1/4	/	/	2/4	/	2/4
脾脏	白髓,易染体巨噬细胞数量增多	+	3/4	3/4	1/4	1/4	2/4	3/4
肾脏	间质,单核细胞浸润,单灶/多灶	+	3/4	1/4	2/4	1/4	1/4	2/4
颌下腺	间质,单核细胞浸润,单灶/多灶	+	3/4	3/4	3/4	1/4	1/4	3/4
胸腺	出血,单灶	+	1/4	/	/	/	/	1/4
	囊肿,单灶	+	1/4	/	/	/	/	/
肾上腺	钙盐沉着,单灶/多灶	+	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
胰腺	腺泡坏死,单灶	++	1/4	/	/	/	/	/
甲状腺	胸腺异位	/	2/4	1/4	/	1/4	/	/
垂体	囊肿,单灶	+	/	/	1/4	/	/	/
注射部位(皮肤、肌肉)	皮下组织/真皮/肌肉间质,出血,多灶	++	2/4	2/4	2/4	2/4	1/4	/
	皮下组织/真皮间质,单核细胞浸润,单灶/多灶	+	2/4	1/4	2/4	1/4	1/4	1/4

余所有器官均未见组织病理学改变

讨 论

在疫苗的研发过程中,重复给药毒性研究是药物非临床性安全评价的核心内容,其目的是通过重复给药的动物试验表征受试物的毒性作用,预测其可能在人体产生的不良反应,降低临床试验受试者和疫苗上市后使用人群的用药风险。将其结合急性毒性试验,是疫苗从药学研究进入临床试验的重要环节。因而,本研究在前期工作的基础上首先进行了 F 基因型腮腺炎减毒活疫苗的大鼠急性毒性试验,研究结果表明在给予大鼠相当于人用剂量的 1200 倍剂量时,无论是临床症状监测还是大体病理学检查,均无明显异常。

在急性毒性研究的基础上,本研究进一步进行了疫苗的重复给药毒性研究。研究结果表明,恒河猴皮下注射 SP - A 株腮腺炎减毒活疫苗,疫苗对动物临床症状、血液学和血清生化指标无明显影响。CD4⁺、CD8⁺ 细胞比值亦无明显改变,因而可以明确高剂量的疫苗重复给药并未对动物的免疫系统造成损伤,并

且动物的血液及组织器官中均未检出腮腺炎病毒 RNA,各组织器官未见明显组织病理学改变,尤为重要,无论是低剂量组还是高剂量组,在腮腺炎病毒可能导致较严重病变的器官:脑的各个部位及睾丸均未见病理学改变,由此可以进一步明确该减毒活疫苗的安全性。由此,本研究通过急性毒性试验及重复给药毒性试验,进一步明确了疫苗的安全性,从而为疫苗进入临床试验提供了数据支持并奠定了基础。

参考文献

1 Sauder CJ, Zhang CX, Ngo L, *et al.* Gene - specific contributions to mumps virus neurovirulence and neuroattenuation[J]. J Virol, 2011, 85(14):7059 - 7069

2 Gupta RK, Registrar S, Beat J, *et al.* Mumps and the UK epidemic [J]. BMJ,2005,330(7500):1132 - 1135

3 Carr MJ, Moss E, Waters A, *et al.* Molecular epidemiological evaluation of the recent resurgence in mumps virus infectious in Ireland[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(9):3288 - 3294

4 杨文震. 腮腺炎病毒的基因分型及当前疫苗的免疫效果[J]. 国外医学预防诊断治疗用生物制品分册,2005,28(2):49 - 52

5 Wu L, Bai L, Li Y, *et al.* Wild type mumps viruses circulating in

- China establish a new genotype[J]. Vaccine, 1998, 16(7):281-285
- 6 马绍辉, 张蓉松, 刘龙丁, 等. 腮腺炎病毒分离株(SP株)SH基因及其旁侧序列的初步分析[J]. 微生物与感染, 2006, 1(2):87-90
 - 7 Cortese MM, Barskey AE, Tegtmeier GE, *et al.* Mumps antibody levels among students before a mumps outbreak: in search of a correlate of immunity[J]. J Infection Diseases, 2011, 204(1):1413-1422
 - 8 Rubin SA, Link MA, Sauder CJ, *et al.* Recent mumps outbreaks in vaccinated populations: no evidence of immune escape[J]. J Virol, 2012, 86(1):615-620
 - 9 史长军, 梁燕, 崔平芳, 等. 不同代次F基因型SP-A株腮腺炎病毒在恒河猴体内的致病性[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(9):774-776
 - 10 Liang Y, Ma SH, Liu LD, *et al.* Identification and development of a promising novel mumps vaccine candidate strain[J]. Microbes And Infection, 2010, 12(1):1178-1187
- (收稿日期:2012-10-17)
(修回日期:2012-11-16)

MTH2 和 MTH3 蛋白在快速老化模型鼠 SAMP8 胸腺中增龄性表达的比较研究

蒙 茗 黑爱莲 姜 平 蔡剑平

摘 要 目的 检测抗核酸氧化酶蛋白 MTH2 和 MTH3 在快速老化小鼠 SAMP8 胸腺中的表达, 探讨其与 SAMP8 增龄性变化的相关性。**方法** 选用 1、4、8、12 月龄的 SAMP8 小鼠及同龄的抗快速老化小鼠 R1 (SAMR1) 作为实验对象。采用免疫印迹法检测胸腺中 MTH2 和 MTH3 蛋白的表达。**结果** 免疫印迹结果显示, 在 SAM 鼠胸腺中 MTH3 蛋白的表达量均显著高于 MTH2。定量结果显示, 1、4、8、12 月龄的 SAMP8 胸腺中 MTH3 表达的灰度值 (grey level) 分别为 0.546、0.322、0.207、0.164, 显著低于同龄 SAMR1 ($P < 0.05$), 而 MTH2 在 SAMP8 和 SAMR1 胸腺中的表达却没有显著性差异 ($P > 0.05$)。与同组 1 月龄小鼠相比, MTH3 在 4、8、12 月龄的 SAMP8 鼠胸腺中的表达量分别下降 41%、62%、70%; 在 SAMR1 鼠中分别下降 19%、43%、67%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 MTH2 在 SAMP8 和 SAMR1 胸腺中的表达也存在相同的增龄性下降的变化趋势 ($P < 0.05$)。**结论** MTH2 和 MTH3 蛋白在 SAMP8 和 SAMR1 小鼠胸腺中的表达量均呈增龄性下降, 提示 MTH2 和 MTH3 蛋白表达量的减少在 SAM 鼠胸腺的衰老过程中具有重要意义, 其中 MTH3 蛋白表达量的减少可能与 SAMP8 小鼠胸腺的快速衰老密切相关。

关键词 MTH2 蛋白 MTH3 蛋白 SAMP8 胸腺 增龄性变化

Change of MTH2 and MTH3 Expression with Aging in Thymus of Senescence - accelerated Mouse P8. Meng Ming, Hei Ailian, Jiang Ping, Cai Jianping. Beijing Hospital & Beijing Institute of Geriatrics, Ministry of Health, Beijing 100730, China

Abstract Objective To detect the expression of anti-nucleic acid oxidase MTH2 and MTH3 in the thymus of senescence - accelerated mouse P8 (SAMP8). **Methods** We randomly selected SAMP8 and its control strain SAMR1 aged 1-, 4-, 8- and 12-month and performed western blot analysis to observe the expression of MTH2 and MTH3 in thymuses of the two groups of mice. **Results** The results of Western blot showed that the expression of MTH3 in thymuses of SAM mice were significantly higher than MTH2. Meanwhile, the quantitative results showed that the grey values of MTH3 expression were 0.546, 0.322, 0.207 and 0.164 in thymuses of 1-12 months-old SAMP8 mice, and significantly lower than those in the age-matched SAMR1 mice ($P < 0.05$). However, there wasn't significant difference in the expression of MTH2 in thymuses between SAMP8 and SAMR1 groups ($P > 0.05$). Compared with 1 month-old mice in the same group, the expression of MTH3 in thymuses of 4-12 months-old SAMP8 had dropped by 41%, 62% and 70% respectively. The same pattern was also observed in SAMR1 mice, and the descendent value were 19%, 43% and 67% ($P < 0.05$). The expression of MTH2 in thymuses of SAMP8 and SAMR1 had the same trend with aging ($P < 0.05$). **Conclusion** The age-related decline of MTH2 and MTH3 in thymuses of SAM mice reveals that these two proteins play an important role in the aging process of thymus, especially, the decrease of MTH3 expression may be tightly associated with the rapid thymus aging in SAMP8 mice.

Key words MTH2 protein; MTH3 protein; SAMP8; Thymus; Age-related changes

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81171028)

作者单位: 100730 卫生部北京医院/卫生部北京老年医学研究所/卫生部老年医学重点实验室

通讯作者: 蔡剑平, 电子信箱: caijp61@vip.sina.com