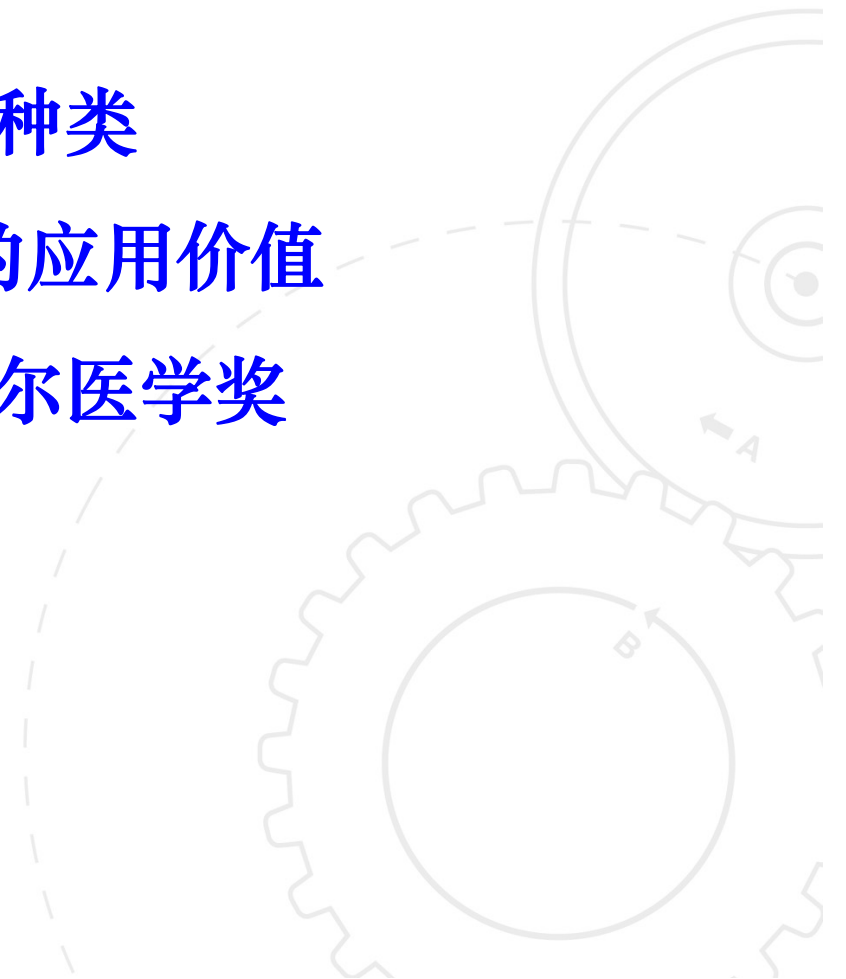


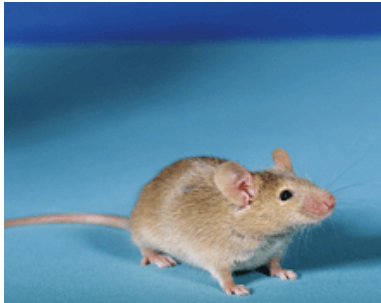
# 温故知新：实验动物多样性

常用实验动物种类

实验动物化的动物的应用价值

模式生物及其诺贝尔医学奖





# 开展一项动物实验研究工 的第一步？

## 根据实验目的正确的选择实验动物

### 正确选择实验动物选择的重要性

- 影响到经费支出工作进展；
- 影响到实验结果的正确性与可靠性；
- 整个实验的顺利完成；

# 第九章

## 医学实验动物的选择原则



# 医学科研实验研究中的关键问题

- 动物实验结果的正确可靠
- 能够精确判定实验结果
- 排除实验动物携带的细菌、病毒、寄生虫和潜在疾病对实验结果的影响
- 排除动物的遗传不均质
- 排除个体差异

**关键：一定选择符合国家标准的实验动物**

## **标准化实验动物**

**回忆知识点！**

- > 具有动物生产条件和质量合格证
- > 动物级别、合格证编号等动物质量合格证明
- > 在论文和成果鉴定是提供重要的证明材料
- > 是成果是否承认，论文是否可发表的基本条件之一。

## 医学论文中, 凡涉及实验动物者 在描述中应符合以下要求 (※※※)

- 品种、品系描述清楚;
- 强调来源;
- 遗传背景;
- 微生物学质量;
- 明确体重;明确等级;
- 明确饲养环境和实验环境;
- 明确性别;有无质量合格证;
- 应有对饲养的描述(如饲料、营养、照明、温度、湿度)
- 所有动物数量准确
- 详细描述动物的健康状况
- 对实验动物的处理方式有单独清楚的交代
- 全部有对照, 数据统计分析

# 1 材料与方法

## 1.1 实验动物

选择 SPF 级 5-LO 传代阳性转基因小鼠及其同窝成年阴性小鼠(正常对照)进行实验,雌雄不限[SCXK(辽)2013-0001]。饲料购自北京科澳协力饲料有限公司[SCXK(京)2013-0007]。饮用水为高压灭菌酸化水(pH2.5~3),动物饲养于 12 h 明暗循环的屏障系统内[SYXK(辽)2013-0007]。实验过程中对实验用鼠均按照实验动物的 3R 原则给予人道关怀。

## 1.2 主要试剂

PCR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司

型可为高血压的发病机制和治疗的研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠，购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2012-0001]。所有实验用鼠饲养于中国医科大学实验动物部[SYXK(辽)2013-0001]，温度为  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度为  $50\% \pm 10\%$ 。自动光控(12 h 明, 12 h 暗)[SYXK(辽)2013-0007]。

### 1.2 *eNOS* 基因敲除大鼠的制备

1.2.1 注射基因纯化 利用锌指核酸酶(ZFN)技术，构建敲除载体。酶切线性化。用 AclI 和 XbaI 公司的

# 第一节

## 动物实验研究中选择的基本原则



## 1. 近似原则

在实际可能的条件下，尽量选择那些结构、功能、代谢及疾病和人类相似的实验动物作实验。一般来说，实验动物愈高等，进化程度愈高，其功能、代谢、结构愈复杂，反映就愈接近人类。



灵长类动物最接近于人类，是进行外科学、生理学、病理学、妇产科学、胚胎学、放射医学、牙科学、免疫学、药物毒理、营养和行为研究的良好动物。应为首选动物。灵长类制成的毒瘾模型，接近于人类。在动物身上复制疾病模型目的在于找出可以推广应用于病人的有关规律

灵长类动物较难获得，价格昂贵，对饲养条件的要求特殊，所以在实际应用中常退而求其次。



蛙是低等的两栖类动物，但用蛙的脊髓做神经反射弧试验，简单、直观、明确、容易分析。



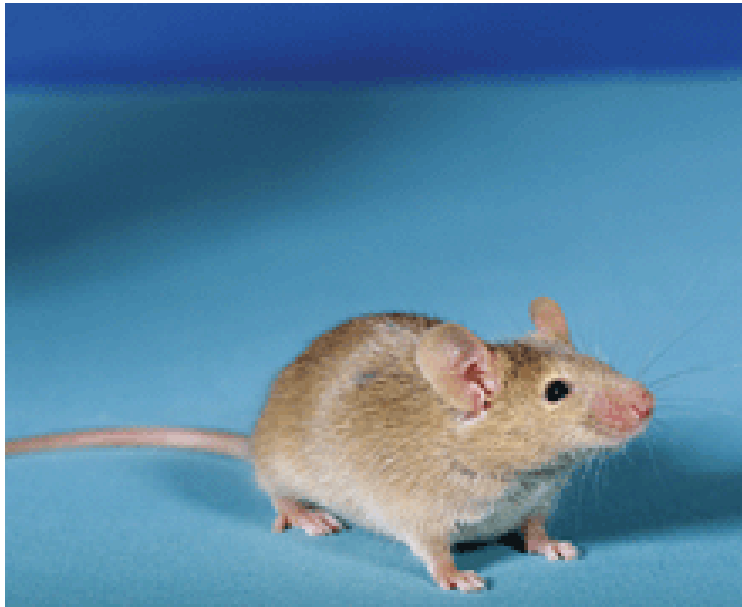
豚鼠的心脏体外测定药物对冠脉流量的影响，用豚鼠的气管和肺做支气管扩张药药效学研究



狗具有发达的神经系统，其消化生理、毒理和对疾病的反应和人类近似，适合于做生理、营养、药理、毒理、行为和外科手术的研究。自发性狗类风湿关节炎与人类幼年型类风湿关节炎十分相似



猪的心脏瓣膜、结构与人类相似，应用于人心脏瓣膜缺损的修补。猪的胆固醇代谢与人类类似，是高胆固醇饲料引发的动脉粥样硬化的理想动物模型。老年雌性猪自发性冠状动脉硬化是研究人类冠心病的理想模型



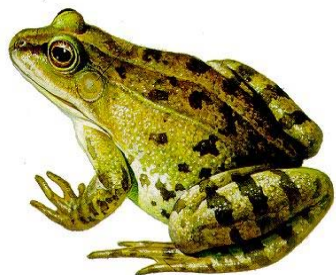
应用最多的哺乳类动物还是小鼠和大鼠，由于它们的解剖学和组织学特点、生理反应、代谢状况以及对许多药物的反应均类似于人，另外他们价格便宜、易于管理和控制。

虽然各种实验动物彼此之间具有一定的相似性，但是它们毕竟在解剖和生理上存在着差异，各有特点，各种动物之间在基因型，组织型，代谢型，易感性等方面的差异也是实验的可比性内容。

这就要求研究人员根据实验的目的结合解剖生理特点选择动物，尽量使实验易于操作，便于观察

## 2. 差异性原则

充分利用不同品系实验动物存在的某些特殊反应  
尽量选用解剖、生理特点符合实验目的要求的动物



蛙的大脑不发达，不可作为高级神经活动的实验，但蛙的脊髓具有最简单的发射中枢，做**神经反射弧实验**，简单、直观、明确、容易分析。



大、小鼠性成熟早，8-10周龄时已交配反之，且繁殖周期短，孕期 $20 \pm 2d$ ，产仔多，适于做**避孕药物、雌激素的研究**，也可用于畸胎学和胚胎学的研究。

- **大鼠**没有胆囊，不能选作胆囊功能的研究，而适合做胆管插管收集胆汁，进行**消化功能**的研究。
- **大、小鼠**无呕吐反应，不宜用作呕吐试验。
- 猪的皮肤组织学结构与人相似，上皮再生性、皮下脂肪层及烧伤后内分泌代谢等也相似，因此选用**小型猪做烧伤实验研究是较理想的实验动物**。

### 3.易行性和经济性原则

研究过程中，进化程度高、结构功能复杂的动物有时会给实验条件控制和实验结果分析带来难以预料的困难，在这种情况下，应从易化角度入手，选择那些既能满足实验要求，结构功能又简单的、便于实验分析的动物。

如：选择果蝇进行遗传学研究取得了举世瞩目的成就，而同样的实验若改用高等动物其难度是很难设想的。

- > 复制动物模型时，采用的方法尽量做到容易执行，合乎经济原则。
- > 灵长类与人最接近，复制的疾病模型相似性好，稀少昂贵，及时猕猴不可多得，很多小动物可以复制出十分相近的人类疾病模型，他们容易做到遗传背景明确，体内微生物可控制。模型星状显著，年龄、性别、体重等可以任意选择，便于饲养管理。（特殊：**SARS**、痢疾）

## 4.相容和匹配原则

在设计动物实验时，所选用的动物的品质要与实验设计，实验条件、实验者的技术、方法及试剂性能等相匹配。

如将SPF级动物或无菌动物购回后，在普通环境中进行实验，无疑是对实验动物资源的一种浪费。

## 5.可获性原则

啮齿类实验动物因其繁殖周期短，具多胎性、饲养繁殖容易、遗传和微生物控制方便等特点，使其极易获得，而且又是小型哺乳动物，有清楚的遗传背景资料，因此在生物医学实验中应用非常广泛。而灵长类动物应用就非常少

## 6.重复和均一性原则

重复性和均一性是实验结果的质量所在，若实验结果不能再现或不稳定，则不能被公认。



如何保证动物模型的重复性和均一性？

选用标准的实验动物，才能排除因遗传上的不均质引起的个体反应差异，排除动物所携带微生物、寄生虫和潜在疾病对实验结果的影响，获得可靠的实验结果，便于在国际上与同类研究进行比较和交流。

# 重复性

**理想的动物模型可以重复，甚至可以标准化**

为增强动物模型复制时的重复性，必须在：

动物品种、品系、年龄、性别、体重、健康情况、饲养管理；

实验及环境条件、季节、昼夜节律、温湿度、气压、应激、消毒灭菌；

实验方法步骤、药品厂家、批号、纯度、规格、给药剂量、途径、方法、麻醉、镇痛等用药情况；

仪器型号、灵敏度、实验操作熟练度等。

## 7.可靠性

- 反应人类疾病，具备该种疾病的主要症状和体征，经化验，X光，CT，心电图，病理切片等证实。
- 易自发出现某些相应病变的动物不宜选用；易产生于复制疾病相混淆的疾病者不宜选用

如：大鼠铅中毒模型，本身大鼠易患地方性肺炎和肾病，容易与铅中毒所致肾病相混淆。采用蒙古沙鼠比较容易确定，一般铅中毒才会使它出现相应的肾病变。

## 8.适用性

- ◆供医学研究的实验动物模型，复制时应尽可能考虑到今后临床应用和便于控制疾病发展，利于研究开展。

某些雌激素能终止大小鼠早期妊娠，但不能中之人类妊娠，选用雌激素复制大小鼠早期妊娠模型不合适

## 9.选择对实验敏感的品种品系动物



对体温变化十分敏感，故适于做发热、解热和检查致热源等实验研究

热源反应：药物本身含有热源或在配制过程中污染；储存期间产生热源或霉变；输液器等等污染；输液前液体配制污染及输液操作不规范引起污染。

热源实验：家兔对热源物质反应灵敏，常规用于制药和药检部门检查制品的热源。



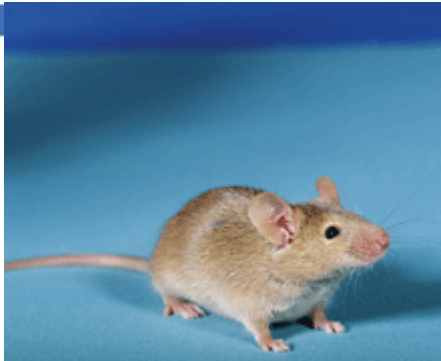
大鼠血压和血管阻力对药物的反应很敏感，血压反应好，常用于筛选新药以及研究心血管药物的药理和调压作用的动物模型。适宜用于降压药及心血管疾病的研究。

eg: 研究降压药则选肾血管型高血压

（药物反应与人相似）

研究高血压病理、生理和药理，选择自发性高血压大鼠

（自发性与人相似）



**小鼠对镇咳药敏感**，在氢氧化铵气雾剂刺激下有咳嗽反应，利用此特性研究镇咳药物。小鼠是做此类研究理想的动物模型。

不同品系的动物，对同一刺激的反应差异很大，如C57BL小鼠对肾上腺皮质激素的敏感性比BALB/C小鼠高12倍，DBA小鼠对音响刺激非常敏感。

## 10.根据对实验质量的要求选择动物

选择实验动物时要尽量选用**标准化动物**。

遗传背景明确，对携带的微生物清楚、模型形状显著且稳定的动物。

选择标准化动物，可排除实验动物自身携带的微生物或潜在疾病对结果的影响

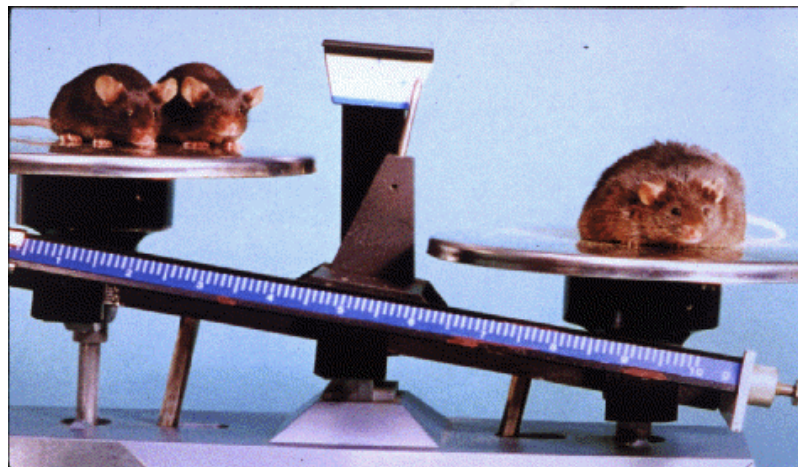
- 在实验中，如果选择SPF动物，可减少在实验过程中发生感染的影响。
- 近交系动物在遗传背景上具有均质的特点，反应一致，试验结果精确可靠；小鼠近交品系很多，选用时必须详细了解品系特点，决定最理想的品系。
- 一般教学用实验动物：清洁级

# 11.符合实验动物选择的一般标准

## 年龄与体重的原则

选择适龄动物进行实验，一般均选择成年动物，慢性、长期性实验选择幼龄动物，老年动物代谢与功能下降，反应迟钝，仅用于老年学研究。

实验动物的寿命各不相同，在发育上有的以日计龄，有的以月计龄，有的以年计龄。不同品种和品系的实验动物其寿命各不同，有的以日，有的以月，有的以年计算。如果对狗和小鼠均观察一年，所反应的发育过程是不同的，即使同样是狗，不同的年龄阶段所得的实验数据也不尽相同。所以选用实验动物时，应注意到实验动物的年龄。



实验动物的体重与年龄有一定的相关性，在正常营养状态及饲养条件下，也可根据体重加以选择，发育正常、体重符合要求的实验动物。

昆明小鼠 6 周龄时雄性约32g，雌性约28g

Wistar大鼠 6周龄时雄性为180g,雌性约160g

豚鼠2 月龄体重约400g

日本大耳白兔8月龄时体重约4500g

应注意的是，动物体重除与年龄密切相关外，与动物品种、品系、营养状态、饲养管理等因素有关，不宜笼统对待。

同一实验中，动物体重尽可能一致，若相差悬殊，则易增加动物反应的个体差异，影响实验结果的正确性。



表 7-4 狗与人的年龄对应

| 年龄对应(年) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 狗       | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| 人       | 15 | 24 | 28 | 34 | 36 | 40 | 44 | 48 | 52 | 56 | 60 | 64 | 68 | 72 | 76 | 80 |

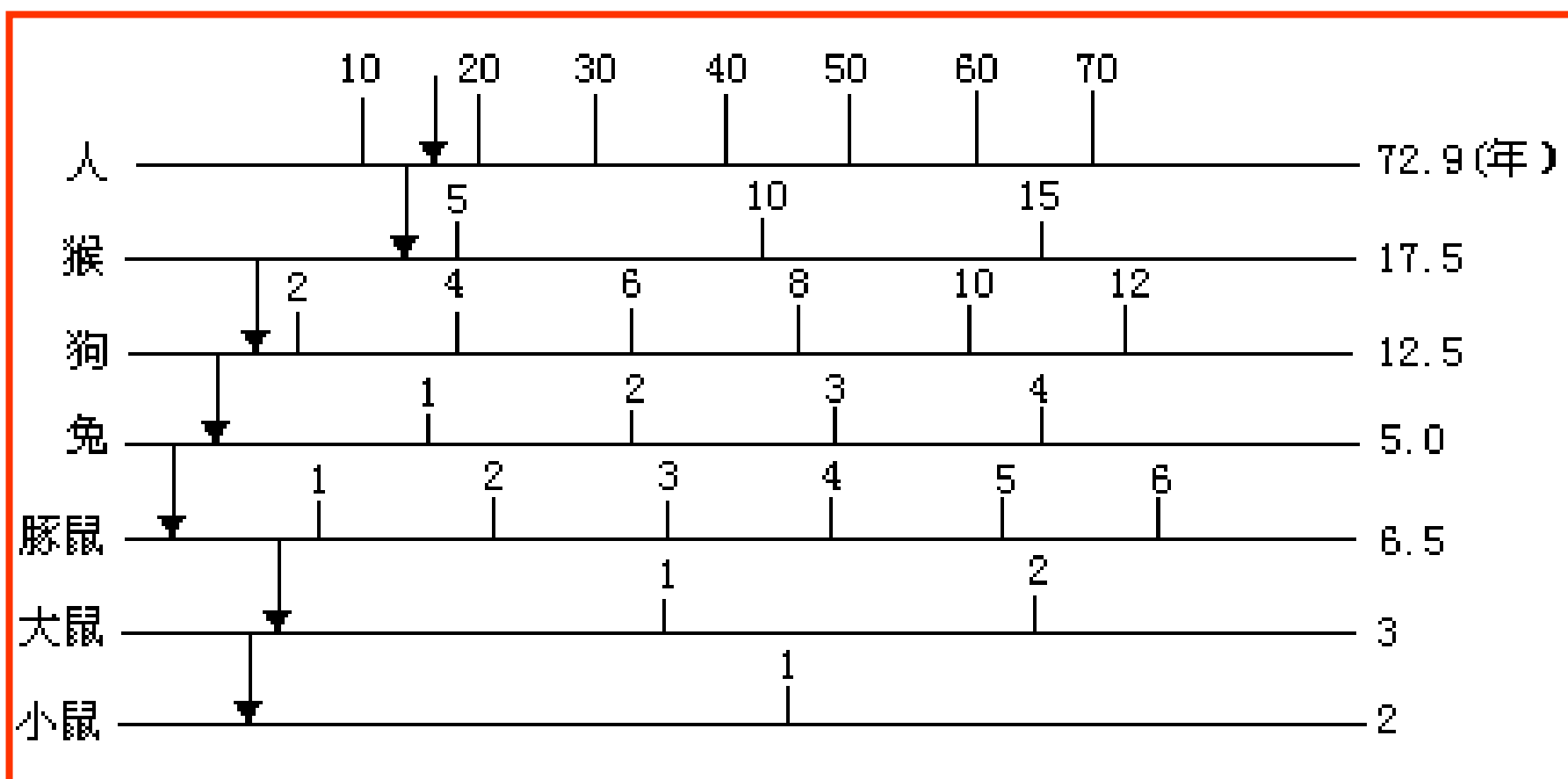


图 7-1 各种动物平均寿命的相应时期

表 7-6 不同日龄小鼠体重的增长情况

| 品系<br>体重(g)<br>日龄 | 昆明    |       | 615   |       | C <sub>3</sub> H |       |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|------------------|-------|
|                   | ♂     | ♀     | ♂     | ♀     | ♂                | ♀     |
| 初生                | 1.90  | 1.70  | 1.58  | 1.58  | 1.44             | 1.44  |
| 7                 | 6.40  | 5.70  | 4.64  | 4.64  | 4.40             | 4.40  |
| 14                | 9.77  | 8.35  | 7.96  | 7.96  | 7.00             | 7.00  |
| 21                | 12.70 | 12.50 | 9.83  | 9.83  | 9.70             | 9.70  |
| 28                | 20.00 | 17.50 | 19.00 | 15.75 | 13.30            | 12.10 |
| 35                | 29.50 | 24.00 | 22.58 | 20.75 | 17.20            | 15.20 |
| 42                | 32.50 | 28.50 | 25.96 | 21.88 | 20.00            | 17.80 |
| 49                | 36.00 | 30.00 | 27.96 | 23.12 | 21.20            | 18.00 |
| 56                | 38.00 | 33.00 | 28.83 | 24.16 | 22.30            | 19.27 |
| 63                | 40.00 | 34.00 | 28.88 | 24.80 | 25.30            | 20.85 |
| 70                | 41.00 | 35.00 | 29.79 | 25.28 | 25.80            | 22.10 |

表 7-8 实验用兔的成熟期与体重

| 品 种    | 成熟期(月) | 体重(公斤)  |
|--------|--------|---------|
| 波兰兔    | 4      | 1.2~1.4 |
| 荷兰兔    | 4      | 1.8~2.2 |
| 喜马拉雅兔  | 6      | 2.0~2.5 |
| 畸形大耳兔  | 6      | 3.0~4.0 |
| 新西兰白兔  | >8     | 4.0~5.5 |
| 弗莱密西兔  | >8     | 4.0~6.5 |
| 大耳白兔 ♂ | 8~9    | 3.0~3.5 |
| ♀      | 6~7    |         |
| 青紫兰兔 ♂ | 8~9    | 3.0~3.5 |
| ♀      | 6~7    |         |



# 动物的性别

性别不同对实验的敏感程度也不同。

如：大鼠皮下注射0.1~0.2ml的 30%乙醇溶液, 雄性动物死亡84%，而雌性动物死亡30%。有时雌性动物的敏感型较雄性高，如用戊巴比妥钠麻醉大鼠，雌性动物的敏感性是雄性动物的2.5~3.8倍。又如雌雄小鼠对食盐急性毒性与慢性毒性的敏感性不一致，急性毒性雌鼠较雄鼠敏感，而慢性毒性雄鼠较雌鼠敏感。

同一品种（系）动物不同性别对许多外界刺激的反应不一致，对实验结果的影响不同。一般来说，无特殊要求宜选用雌雄各半。



## 动物的生理状况

动物如果怀孕、哺乳等，对实验结果影响很大，因此实验不宜采用处于特殊生理状态下的动物进行。如在实验过程中发现动物怀孕，则体重及某些生理生化指标均可受到严重影响，有时应将怀孕动物剔除。动物换毛季节例鸡换羽，兔换毛，动物的免疫功能低下。

动物所处的功能状态不同，也常影响对药物的反应，动物在体温升高的情况下，对解热药比较敏感，血压高时对降压药比较敏感，而血压低时可能对升压药比较敏感。



## 动物的健康状况

动物的健康状况对实验的结果正确与否有直接的影响。健康动物从外观看，体型丰满、发育正常、被毛浓密有光泽紧贴身体、眼睛明亮活泼、行动迅速、反应灵敏、食欲良好。微生物检测符合等级要求。

## 动物的精神因素

精神神经因素对实验动物及实验研究的影响很大，但容易被一般人忽视，而其后果是很严重的。当动物遭受到意外的挑斗、恐吓、虐待、创伤、手术、饥饿、高温、缺氧、疼痛时产生应激，可对内分泌系统、循环系统、免疫功能和机体代谢造成影响，甚至死亡。

## 动物的品系、等级

实验动物的品系和等级可直接影响实验结果的准确性。

- 急性实验：在确信无碍时，可选用微生物  
级别较低但无疾病的动物
- 慢性实验：应选用级别较高的动物
- 移植、接种等实验：供体和受体应选用  
级别高、无感染的动物

## 实验条件

实验条件对动物实验结果有很大影响，一般来说，动物实验常给动物一种刺激或使动物处于一种病理生理状态，在这种状态下的动物比正常动物对环境因素更加敏感。因此，对环境的要求更为严格，所以在复制或选择动物模型时，应当创造一种适宜的、稳定的环境条件，以保证模型动物对药物反应的灵敏、精确和特异。

## 环境因素的影响

- > 复制模型成功与失败往往与环境改变有密切关系，拥挤，饮食改变，光照，屏障系统的破坏等任何一项忽视都带来严重影响。
- > 复制过程中固定、出血、麻醉、手术、药物、并发症处理不当，同样会产生难以估计的后果，要使动物处于最小的变化，最小的干扰中。

## 节约的原则

在保证实验结果准确的前提下，小型、价廉、便于控制，实验周期短的小鼠、大鼠常为首选动物，经代替大型、高等、昂贵的动物是实验动物选择的另一个原则。节约还包括时间上的节约，如避孕药物的研究，灵长类当然是最理想的模型动物；但灵长类动物不仅投资大，时间也长，所以在研究药物的致畸作用时，同样敏感而妊娠期短的大鼠就成为首选的动物。

## 多种动物联合应用

实验动物在新药研究中的应用，对药物的评价有重大意义。但是，它只是在一定程度上类似于人类的反应。不可能完全一样。一种动物所获得的结果总是有限的，而联合应用多种动物所获得的结果，能帮助我们做出更正确的判断。

# 伦理道德与3R原则

**3R**

**Reduction** 减少

**Replacement** 替代

**Refinement** 优化

2004年5月的《实验动物管理条例》（修订稿）中新增“福利”一章，这是我国首次将“动物福利”列入法律条文，规定了人们在使用实验动物时，该怎样做，允许怎样做，禁止怎样做。条款包括：

- （1）从事实验的工作人员必须爱护动物，禁止伤害、虐待动物；
- （2）在符合科学原则的情况下，开展动物替代方法研究；
- （3）在不影响实验结果的情况下，采取有效措施避免给动物造成不必要的不安、痛苦和伤害；
- （4）实验结束后采取最少痛苦的方法处置动物。

# 小结

- 近似的原则
- 差异性原则
- 易化原则
- 相容相匹配原则
- 可获性原则
- 重复性和均一性原则
- 适用性
- 根据实验质量要求选择动物原则
- 根据动物敏感性选择实验动物原则
- 实验动物选择的一般原则
- **3R**原则



# 动物模型的设计原则？

