

人类疾病动物模型

- 第一节 人类疾病动物模型评估及分类
- 第二节 肿瘤疾病动物模型
- 第三节 心血管疾病动物模型
- 第四节 呼吸、消化疾病动物模型
- 第五节 内分泌、营养疾病动物模型
- 第六节 神经系统疾病动物模型
- 第七节 骨骼系统疾病动物模型

第一节 人类疾病动物模型评估及分类

人类疾病动物模型(Animal models of human diseases):

是指医学研究中建立的具有人类疾病模拟表现的动物实验对象和相关材料。

一、复制人类疾病动物模型的评估

1. 相似性

复制的动物模型应尽可能近似人类疾病，最好能找到与人类疾病相同的自发性疾病。

2. 重复性

理想的人类疾病动物模型应该是可重复的，应是可标准化的，不能重复的动物模型是无法进行应用研究的。

3. 可靠性

复制的动物模型应力求可靠地反映人类疾病，即可特异地反映该种疾病或某种机能、代谢、结构变化，同时应具备该种疾病的主要症状和体征，并经受一系列检测(如心电图、临床生理、生化指标检验、病理切片等)得以证实。

4. 适用性和可控性

设计复制人类疾病动物模型，应尽量考虑在今后临床能应用和便于控制其疾病的发展，以便于开展研究工作。

5. 易行性和经济性

复制动物模型设计，应尽量做到方法容易执行和合乎经济原则。

二、动物模型的分类

按产生原因分类

1. 诱发性动物模型(Experimental animal model):

是指研究者通过使用物理的、化学的、生物的和复合的致病因素作用于动物，造成动物组织、器官或全身一定的损害，出现某些类似人类疾病时的功能、代谢或形态结构方面的病变，即为人工诱发出特定的疾病动物模型。

- 物理因素：机械损伤、放射线损伤、气压、手术
- 化学因素：化学药致癌、化学毒物中毒、强酸强碱烧伤、某种有机成分的增加或减少导致营养性疾病等。
- 生物因素：细菌、病毒、寄生虫、生物毒素等。
- 复合因素：

2. 自发性动物模型 (Spontaneous animal model):

指实验动物未经任何人工处置，在自然条件下动物自然发生、或由于基因突变的异常表现通过遗传育种保留下来的动物模型。

优点：完全在自然条件下发生的疾病，排除了人为的因素，疾病的发生、发展与人类相应的疾病很相似。

缺点：来源比较困难，种类有限。

3. 抗疾病型动物模型 (Negative animal model):

是指特定的疾病不会在某种动物身上发生，从而可以用来探讨为何这种动物对该疾病有天然的抵抗力的动物模型。

4. 生物医学动物模型 (Biomedical animal model):

是指利用健康动物生物学特征来提供人类疾病相似表现的疾病模型。

第二节 肿瘤疾病动物模型

分类：

1. 自发性肿瘤（spontaneous tumor）动物模型：

指实验动物未经任何有意识的人工处置，在自然情况下发生的肿瘤所形成的模型。

2. 诱发性肿瘤（induced tumor）动物模型：

是使用致癌因素在实验条件下诱发动物发生肿瘤的动物模型。

3. 移植性肿瘤（transplant tumor）动物模型：

指将动物或人体肿瘤移植同种或异种动物连续传代而培养出的模型。

诱发性肿瘤模型：

1. 方法：

- 1) **原位诱发：**指将致癌物直接与动物靶组织或靶器官接触而诱发该组织或器官发生肿瘤，接触方法可通过涂抹、灌注、喂养或埋置等。
- 2) **异位诱发：**将与致癌物接触后的动物组织或器官埋置于该动物或另一正常动物皮下而产生的该组织或器官的肿瘤。**异位诱发肿瘤具有易于观察和取材的优点。**

2. 诱癌物：

放射线局部照射、化学致癌物（烷化剂、亚硝胺类、芳香胺类）、生物毒素（黄曲酶毒素）、细菌（幽门螺杆菌）、肿瘤病毒感染。

举例：

1. 二乙基亚硝酸胺(DEN)诱发小鼠肺癌：

采用小鼠皮下注射1% DEN水溶液，每周一次，(每次剂量为56mg/kg体重，总剂量为868mg)。观察时间为100d左右。此模型诱发率约40%。若将DEN总剂量增到1176mg时，半年诱发率可达90%以上。

2. 亚胺基偶氮甲苯(OAAT)诱发小鼠肝癌：

用1% OAAT苯溶液涂于动物两肩胛间皮肤上，隔日1次，每次2-3滴、一般涂100次。7个月以上诱发肝肿瘤约55%。

3. 黄曲霉素诱发大鼠肝癌：

在大鼠饲料中加入黄曲霉素，含0.011-0.015ppm，喂养6个月，诱发率达80%。

注意：

1. 必须适当选择：**致瘤方法、动物种系、致癌物种类与溶剂、给药剂量与途径及观察时间**等尽量简便可行，有较好的重复性，并有利于与人肿瘤比较。
2. 方法和种系应对所用致瘤物敏感。
3. 致癌物的**剂量**应能保证动物存活率较高、诱发期较短而又可诱发较高频率的肿瘤。

移植性肿瘤模型：

方法：

1. 实体瘤移植：

肿瘤细胞皮下接种——7-10d处死荷瘤动物——选择生长良好、无坏死液化的瘤组织—— $2-3\text{mm}^3$ +生理盐水或其它营养液——无菌套管针抽吸——接种同种受体动物右前腋窝皮下。

2. 腹水瘤移植：

肿瘤细胞皮下接种——7-10d处死荷瘤动物——取腹水——含葡萄糖平衡盐水稀释至适当浓度——腹腔注射（腹水瘤）或皮下注射（实体瘤）。

评价:

1. 同时接种同样量的瘤细胞，增长速度较一致，个体差异较小。
2. 接种成活率近100%。
3. 对宿主影响相类似。
4. 可连续传代，试验周期短，条件易于控制。
5. 主要问题是**宿主对移植物产生免疫排斥反应。**

第三节 心血管疾病动物模型

高脂饲料诱发高血脂及动脉粥样硬化症
模型

非喂养法诱发高血脂及动脉粥样硬化症
模型

高脂饲料诱发高血脂及动脉粥样硬化症模型

造模机制：

1. 动物饲料中加入过量的胆固醇和脂肪，饲养一定时间后，其主动脉及冠状动脉处逐渐形成粥样硬化斑块，并出现高血脂症。
2. 高胆固醇和高脂饮食，加入少量胆酸盐，可增加胆固醇的吸收，如再加入甲状腺抑制药—**甲基硫氧嘧啶**或**丙基硫氧嘧啶**可进一步加速病变的形成。

造模方法：

1. 小型猪：

选用Gottigen系小型猪较为理想，用1%~2%高脂食物饲喂6个月即可形成动脉粥样硬化病变。

评价：形成动脉粥样硬化**病变特点及分布**都与人类近似。

2. 猴：

选用3.5~10.5kg，3~6岁的恒河猴饲喂高脂饲料(50%麦粉、8%玉米粉、8%麦麸、1%胆固醇、8%蛋黄、8%猪油、17%白糖及适量的小苏打和食盐)。1个月后造成猴的实验性高血脂症。血清胆固醇较正常时升高3.1~3.2倍。

评价：猴的胆固醇代谢、血浆脂蛋白组成及高血脂症与人相似，是较理想的模型。

3. 兔：

选用2kg左右体重，每天胆固醇0.3g，4个月后形成主动脉粥样硬化斑块；剂量增至0.5g，3个月出现斑块；增至1.0g，可缩为2个月。在饲料中加入15%蛋黄粉、0.5%胆固醇和5%猪油，3周后，将胆固醇减去再喂3周，可使斑块发生率达100%，血清胆固醇可升高至2000mg%。

评价：对喂饲胆固醇非常敏感，在短期内便能出现明显的病变。因为兔对外源性胆固醇的吸收率可高达75%~90%，对高血脂的清除能力低（静脉注射胆固醇后，高脂血症可持续3~4天）。

但兔作模型不够理想，主要表现为血源性泡沫细胞增多，且病变分布与人的病变也有差异。

4. 大鼠:

配方一饲料(1%-4%胆固醇、10%猪油, 0.2%甲基硫氧嘧啶、89%-86%基础饲料), 喂服7~10天。可形成高胆固醇血症。

配方二饲料(10%蛋黄粉、5%猪油、0.5%胆盐、85%基础饲料), 喂服7天可形成高胆固醇血症。

评价: 饲养方便、抵抗力强、食性与人相近。所形成的病理改变与人早期者相似, 不易形成似人体的后期病变, 较易形成血栓。

5. 小鼠:

雄性小鼠饲以1%胆固醇及10%猪油的高脂饲料，7天后血清胆固醇即升为 $343 \pm 15 \text{mg}\%$ ；若在饲料中再加入0.3%的胆酸，连饲7天，血清胆固醇可高达 $530 \pm 36 \text{mg}\%$

评价：容易饲养和节省药品等优点，但是取血不便，难做动态观察，所以较少采用。

6. 鸡:

4~8周的莱克亨鸡，在饲料中加入1%-2%胆固醇或15%蛋黄粉，再加5%~10%猪油，经过6~10周，血胆固醇即升至1000mg%~4000mg%，胸主动脉搏块发生率达100%。

评价: 鸡为杂食动物，仅在普通饲料中加入胆固醇，就可形成动脉粥样硬化斑块。病变发生较快，在斑块中有时伴有钙化和形成溃疡。

非喂养法诱发高血脂及动脉粥样硬化症模型

造模方法:

1. 免疫法:

将大鼠主动脉匀浆给兔注射，可引起血胆固醇、 β -脂蛋白及甘油三酯升高。给兔注射马血清 10ml/kg/次，共4次，每次间隔17天。

评价:

动脉内膜损伤率为88%，冠状动脉亦有粥样硬化的病变，若同时给予高胆固醇饲料，病变更加明显。

2. 儿茶酚胺法:

给兔静脉滴注去甲肾上腺素1mg/24h, 时间为30min。一种方法是先滴15min, 休息5min后再滴15min。另一种方法是每次点滴5min和休息5min, 反复6次。

评价:

持续两周, 均可引起主动脉病变, 呈现血管壁中层弱性纤维拉长、劈裂或断裂, 病变中出现坏死及钙化。

3. 半胱氨酸法:

给兔皮下注射同型半胱氨酸硫代内酯每天20~25mg/kg(以5%葡萄糖溶液配成1mg/ml的浓度),连续20~25天。

评价:

成年兔及幼兔均可出现动脉粥样硬化的典型病变。冠状动脉管腔变窄、动脉壁内膜肌细胞增生、纤维状异物物质。如同时在饮料中加入20%的胆固醇,则出现显著的动脉粥样硬化病变。

4. 表面活性剂法:

给大鼠腹腔注射Troton WR1339 300mg/kg体重。

评价:

给药9h后可使血清胆固醇升高3~4倍; 20h后雄性大鼠血清胆固醇仍为正常的3-4倍, 而雌性大鼠却为6倍左右。用药后24h左右升脂作用达最高点, 48h左右恢复正常。其中以甘油三酯升高最强, 其次是磷脂、游离胆固醇, 对胆固醇酯没有影响。

第四节 呼吸、消化疾病动物模型

肝纤维化动物模型

支气管哮喘动物模型

肝纤维化动物模型

模型概述：

1. 任何可引起肝损伤的因素长期、反复作用于肝脏，均可产生肝细胞变性、坏死，继而肝细胞再生和纤维组织增生，导致肝纤维化。
2. 已有化学性损伤、免疫性、生物学、酒精性和营养性肝纤维化模型。每种方法因致病因素不同，给药途径不同，产生肝硬化的机理、纤维化出现早晚、稳定性、出现率、重复性及机体自然患病过程相似程度等都不尽相同。

造模方法：

1. 免疫法：

免疫性肝纤维化产生的机理是III型变态反应引起，白蛋白和血清的大分子物质，作为异种抗原进入大鼠体内后，刺激其产生相应的抗体，当抗原再次进入机体后抗原抗体结合，形成抗原-抗体免疫复合物(IC)，抗原的反复、长期刺激，过量的免疫复合物来不及被清除，沉积于肝脏的血管壁内外，引起血管炎，造成肝损伤。反复导致肝细胞变性、坏死，再生，纤维增生等变化，最后发展为肝纤维化、肝硬化。

动物选用雄性Wistar大鼠，体重130g左右。取猪血清0.5ml，腹腔内注射，每周2次，共8次(猪血清的制备：取新鲜猪血，离心制血清，滤过除菌，分装放低温冰箱备用)。

评价：

大鼠第3周出现肝细胞变性、坏死，第4周增生的胶原纤维形成纤维束，从中央静脉到门管区之间相互伸延，发生纤维化。

模型特点：

- ①肝纤维化出现早，出现率高；
- ②动物整体损伤轻微，毛发、生长情况正常；
- ③纤维化组织中大量胶原增生，III、IV型前胶原mRNA增多。

慢性活动性肝炎患者循环免疫复合物多为阳性，猪血清模型可用慢性肝炎所致肝纤维化的研究，对于研究免疫复合物的形成，沉积和清除及对于防治免疫损伤性肝纤维化有效药物的筛选，具有重要意义。

猪血清模型与白蛋白模型相比

指标	猪血清模型	白蛋白模型
方法	简单	复杂
价格	经济	较贵
出现率	86.7%	77.7%
死亡率	0	40% /31.6%
周期	28d	95d

2. 化学性损伤法:

雄性Wistar大鼠，体重130 g左右，用硫代乙酰胺腹腔内注射，第1次20mg/100g体重，从第二次起12mg/100g体重，每周注射2次，共8周。

评价:

第3周，在肝小叶间中间带出现大片的肝细胞变性坏死和炎细胞浸润，炎细胞浸润、坏死细胞数和程度超过猪血清模型。6周后出现增生纤维束，纤维增生晚于和少于猪血清模型。大鼠肝纤维组织中有I型胶原的mRNA增多。

3. 四氯化碳法:

180~200g Wistar或SD大鼠，皮下注射40%-50%CCl₄，油溶液(0.3ml/100g)，每周2次，第2周始，隔日以20%-30%酒精1ml灌胃(或作为唯一饮料)，饲以单纯玉米面(混以0.5%胆固醇)，共10周。

评价：第2周出现小叶中心小片状肝细胞变性坏死，第4周开始有较薄的纤维间隔形成，第6周肝脏间隔进一步增厚，有假小叶形成；第8周形成厚的纤维间隔，分割形成假小叶。大鼠成活率60%-80%。

该模型是目前国内外常采用的动物模型，可靠且复制时间短，肝纤维化进展稳定，适合于肝硬化过程的动态研究。

支气管哮喘动物模型

大鼠、豚鼠和狗最常用。根据制模方式可分为：

1. 主动免疫致敏动物模型：

利用哺乳类大动物(如狗、羊和猴)在自然状态下感染线圆虫类寄生虫(主要是蛔虫)，血清中长期存在高滴度的抗某一寄生虫抗原的特应性抗体(IgE)，再次受到这一寄生虫抗原的攻击，即迅速地产生抗原抗体反应，并使呼吸道产生支气管哮喘反应；

2. 被动免疫致敏动物模型：

在实验前，用特殊的抗原及免疫辅佐剂注入动物体内，使动物致敏后，制备抗血清输入动物使其被动致敏，再用同一抗原进行攻击建立哮喘模型。

卵白蛋白激发哮喘模型

造模机制：

过敏原卵白蛋白注入豚鼠体内，其可溶性抗原刺激机体产生IgE抗体，使机体处于致敏状态。当豚鼠再次接触此抗原时，IgE介导发生抗原抗体反应，使细胞脱颗粒，释放出活性化学物质如组胺、嗜酸性粒细胞趋化因子等，作用于支气管引起气道高反应致哮喘。

造模方法:

1. **豚鼠:** 200~300g豚鼠, 第1天和8天, 0.5%卵白蛋白溶于生理盐水10ml加至超声雾化吸入器, 用简易面罩雾化吸入10min, 第16-20天将致敏动物置于密闭的容器内, 用1%卵白蛋白气雾激发, 使动物暴露在卵白蛋白气雾中10~30min, 至出现哮喘样发作。

评价:

出现咳嗽、烦躁、口唇和四肢紫绀, 呼吸费力。生理记录仪描记呼吸曲线, 出现呼吸频率加快和呼吸加深。病理检查发现毛细血管扩张, 嗜酸性粒细胞浸润, 腺体分泌活动亢进。

该模型是国内外常用的方法, 方法简单, 复制性强, 且豚鼠是最好的显示气道高反应型的特征动物, 其哮喘发作与人表现相似。主要用于哮喘发病机制的研究和治疗观察。

2. **大鼠：** 4~6周龄120~180g雄性SD大鼠，，腹腔注射卵白蛋白100mg抗原液1ml，灭活百日咳杆菌疫苗 5×10^9 个和氢氧化铝干粉100mg致敏。2周后用超声雾化器向箱内喷雾1%卵白蛋白，吸入20min激发。

评价：

表现呼吸气促，严重者呼吸减慢或节律不齐、轻度紫绀、四肢瘫软、行动迟滞或俯伏不动、反应迟钝，连续激发后大鼠体重减轻、毛色失去光泽、反应迟钝。本模型适用于特异性抗原抗体反应的研究，有速发和迟发双相反应。

邻苯二甲酸酐 (PA) 致变应性哮喘模型

机制：

苯酐是小分子化合物，属半抗原。由于半抗原不能刺激机体产生免疫反应，故需与蛋白结合成全抗原，形成新的抗原决定簇而发挥致敏作用。据此实验制备了两种不同载体的苯酐全抗原即PA-HAS和PA-BSA。用致敏的抗血清给正常动物注射使其致敏，并在相应抗原吸入攻击下同样可诱发出哮喘。

方法:

2-3月龄250-300g豚鼠。用30mg苯酐以1ml丙酮溶解后，加入4℃2%HAS 9%碳酸氢钠溶液中，并搅拌1h形成PA-HSA。同法制备PA-BSA。将制备的抗原与弗氏完全佐剂等量研磨，使之成油包水状。腹腔或后腿肌肉注射0.2~0.3ml/只(含蛋白4-6mg)。注射3~8周后抗原吸入激发。动物俯卧固定，激发前描记正常的呼吸曲线。用1:1000 HSA盐水溶液雾化后吸入1~3min，观察记录0.5h。

模型评价:

豚鼠吸入抗原后1-10min内, 表现为呼吸频率加快, 由100-120次/min增加到140~160次/min; 呼吸幅度增大, 同时伴有咳嗽、喷嚏, 重者呼吸极度费力、挣扎, 有短暂窒息甚至死亡。发作一般持续30~50min。

PA是确切的职业性致喘物质。苯酐哮喘属变应性哮喘, 患者体内可测出特异性抗体, 苯酐抗原吸入激发试验常呈现阳性。本模型的建立, 为进一步研究该哮喘的病理变化提供了条件。

血小板活性因子 (PAF) 诱发哮喘模型

造模机制

PAF是目前已知的唯一能引起气道高反应性炎症介质。PAF引发哮喘发作的原因可能是PAF通过嗜酸性粒细胞的活化趋向、脱颗粒、释放嗜酸性细胞蛋白X (Epx)、嗜酸性细胞阳离子蛋白 (ECP) 和碱性蛋白等细胞毒性物质引起气道上皮细胞损伤和脱落。另外，激活的嗜酸性细胞本身又合成和释放PAF，使这一过程加剧，最终引起气道高反应性。

方法:

300–500g雄性豚鼠，激发实验当天，采用含0.25%BSA生理盐水，将PAF稀释成500ug/ml，按1500ug/kg的剂量雾化吸入，即引起豚鼠哮喘发作。

评价:

PAF激发豚鼠哮喘发作不需致敏过程，直接利用其特性而引发气道的高反应性，本模型主要用于研究哮喘病因学和发病机制的研究。

第五节 内分泌、营养疾病动物模型

糖尿病动物模型

缺铁性贫血动物模型

维生素D缺乏性佝偻病动物模型

糖尿病动物模型

模型概述

糖尿病动物模型复制方法主要包括5种：

1. 注射致高血糖因子，如生长激素、胰高糖素、糖皮质激素以及儿茶酚胺类激素等，复制出某些继发性糖尿病模型。
2. 注射化学物质引起胰岛 β 细胞的损伤，如链脲佐菌素(STZ)、四氧嘧啶、二苯硫代卡巴腓可造成胰岛 β 细胞不可逆损伤；环丙庚哌、天门冬素酶、6-氨基尼克酰胺、2-脱氧葡萄糖、甘露庚酮糖可引起 β 细胞可逆性损伤。

3. 注射生物及生物制品引起 β 细胞破坏，如鼠脑炎、心肌炎病毒M型变异可诱发若干品系的成年小鼠糖尿病，IL-1在一定剂量和范围内对 β 细胞有选择性细胞毒作用，导致IDDM。
4. 手术切除胰腺的大部分或全部，并给予高糖饮食刺激，引起继发性永久性糖尿病。
5. 筛选、引种、繁殖遗传性及自发性糖尿病，这类动物模型更接近人类糖尿病的自然起病及发展，尤其适于研究糖尿病的病因学。

造模方法

1. 病毒诱发法

DBA/2雌性小鼠，皮下接种脑炎、心肌炎病毒M型变异株4—7天后出现明显的高血糖，伴有血中及胰腺中胰岛素含量降低。

评价：

其高血糖为特发性，伴明显低胰岛素血症，在某些小鼠中可自然缓解，但糖耐量异常及高血糖在恢复期中仍将存在，其生化方面与人类MODP相似。

2. 四氧嘧啶法

SD大鼠200g左右，40mg/kg四氧嘧啶静脉注射1次，观察血糖 $>300\text{mg}/1$ ，持续2周可以认为造模成功。

3. 链脲佐菌致糖尿病Wistar大鼠

链脲佐菌素可造成动物胰岛 β 细胞大量坏死，通过不同给药方法，可复制出速发型类似NIDDM和迟发型类似IDDM的动物模型。

1) 速发型:

STZ用0.1mmol/L无菌枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液新鲜配制成2%溶液, 调节pH至4.5, 滤菌器过滤除菌。大鼠禁食10h按50~65mg/kg腹腔内或尾静脉一次性注射, 24h内随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 稳定5d即可作为成功模型。

2) 迟发型:

链脲佐菌配制同前, 福氏佐剂(CFA)按4:1称取液体石蜡和羊毛脂, 研碎混匀, 经高压消毒后低温保存, 使用前按1.5mg/0.5ml加入无菌灭活卡介苗。第1天腹腔注射0.5mlCFA, 次日按25mg/kg腹腔内注射STZ溶液。每周1次, 连续3周, 第2周部分大鼠就可成模型, 第3周成模率87.5%。

评价：

1. 速发型 一次足量给予链脲佐菌素，造成 β 细胞大量损伤，胰岛素合成和分泌减少，引起糖代谢紊乱，导致糖尿病。速发型模型较适于NIDDM的相关研究。通常单剂量达50mg/kg体重不出现自然缓解现象，第6~27天，胰岛有一定程度再生，功能部分恢复，但仍处于高血糖状态。
2. 迟发型 福氏完全佐剂可激发机体免疫功能，将小剂量STZ和CFA联合使用，可激活大鼠体内淋巴细胞诱导胰岛 β 细胞发生轻度改变，被激活的HLC可将轻度变性的细胞作靶细胞攻击，导致自身免疫，胰岛 β 细胞损害加重，引起糖尿病。迟发型模型有免疫学的改变，更接近人类IDDM的发生发展变化，有报道可测得大鼠体内抗胰岛细胞抗体。

3. 化学诱导是一种简便，价廉的方法。其中STZ优于四氧嘧啶，其造模稳定，快速，无自然缓解，种属选择性不强(豚鼠只能用链脲菌素造模)，复制前不需禁食。糖尿病形成后无需特意安排动物饲养条件。STZ可作用于对四氧嘧啶致糖尿作用有抵抗的豚鼠。但价格较四氧嘧啶贵。
4. 四氧嘧啶和链脲菌素均为一种可以选择性作用于胰岛 β 细胞的化学物质，其作用机制目前有不同认识，有人认为是破坏了细胞本身，有人则认为仅是细胞脱颗粒或是胞膜上葡萄糖受体的变化。

4. 高糖饲喂诱发法

选用SHR/NLH-CP大鼠5周龄，喂饲含54%蔗糖饮食。1个月时，观察到OGTT异常，6.5个月时胰岛素反应异常，9个月时可见体重减轻，衰弱。

评价：

一些动物品系有自发或在施加诱导的条件下发生糖尿病的倾向。SHR/NLH-CP大鼠模型某些代谢和组织病理特征与人类非胰岛素依赖性糖尿病相似，该模型还可观察糖尿病肝肾损害。

缺铁性贫血动物模型

缺铁性贫血（IDA）发生的主要原因是由于铁的摄入不足和/或铁丢失过多，引起机体血红蛋白合成障碍导致。IDA模型有大鼠、小鼠、兔、鸡、猫、狗、猴等，其中以大鼠最为常用。

方法:

1. **给予低铁饮食。** 饲料含铁量 $\geq 50\text{mg/kg}$ 能满足大鼠的基本需要，低铁饲料的铁含量 $\leq 10\text{mg/kg}$ ，标准饲料铁含量为220-270mg/kg。饲料配方以酪蛋白或脱脂奶粉作为蛋白来源，玉米淀粉或蔗糖作为碳水化合物来源，加入植物油，混合维生素和混合无机盐配制。近来通过络合剂1%EDTA-2Na除去国产饲料中的铁，取得满意的实验结果。
2. **给动物逐次少量放血，造成铁的慢性丢失。** 通常采用剪尾的方法，一方面放血不但引起铁的丢失，而且还可以引起其它营养素的丢失；另一方面剪尾易引起动物感染而死亡。
3. **低铁饮食辅以定期少量放血。**

评价：

1. IDA大鼠早期 ($Hb \leq 100g/L$) 表现为毛发生长差、脱毛、眼球肿胀突出、苍白、兴奋为主，晚期 ($Hb \leq 60g/L$) 表现为倦怠、活动减少，易感染为主；
2. 血液学及生化检查表现为血红蛋白及骨髓铁(功能池)、血清浓度(交换池)、血清运铁蛋白及肝脏铁含量(贮存池)均显著低于正常对照组。其中以血红蛋白和骨髓铁的变化较敏感。
3. 低铁饲料喂养大鼠5、6周即可复制出上述表现，F344、Wistar大鼠的反应性优于SD大鼠。
4. 此模型形成期短、稳定、可行，是研究IDA的一个可靠动物模型。

维生素D缺乏性佝偻病动物模型

VitD可从食物中摄取，即外源性VitD，另外，皮肤中7-脱氢胆固醇经日光紫外线照射后可转变VitD₃，即内源性VitD₃。阻断饲料中维生素D摄入减少光照，可制成维生素D缺乏性佝偻病模型。佝偻病模型建立较方便、可行，重复性好，可采用不同动物。

方法：

1. 大鼠

20-21d断奶大鼠给予不含VitD饲料，常见配方(玉米76%，蛋清粉5%，小麦麸13%，碳酸钙5%，食盐1%或玉米76%，赖氨酸0.5%，小麦麸20%，碳酸钙3%，食盐1%)。钙、磷的含量根据实验设计确定。大鼠饲养于避光环境，于21、30、55、77d活杀。

大鼠在饲养20-30d时血清钙磷降低，碱性磷酸酶增高；骨X光片示先期钙化带模糊，干垢端毛糙，毛刷状改变；骨病理切片显示软骨细胞向骨干呈舌岛状增生，骨化线参差不齐。判定模型成功。

2. 猪

用不含维生素D的饲料养母猪，避光，产仔后继续原饲料喂养，仔猪于6-12周时出现佝偻病体征。检测血清1-羟化酶活力增高，表示猪佝偻病模型成立。在治疗4周后(1, 25-(OH)₂D₃ 1mg/d)，佝偻病仔猪1-羟化酶活力无变化。提示佝偻病仔猪为1, 25-(OH)₂D₃产生的先天缺陷。

第六节 神经系统疾病动物模型

疼痛动物模型

记忆动物模型

癫痫动物模型

疼痛动物模型

疼痛作为主观的感受和体验，是一种复杂的生理心理反应。动物实验只能间接借助由于伤害性刺激引起的“痛”反应作为测量指标。按刺激性质可分为四大类，即热刺激法、电刺激法、机械刺激法和化学刺激法。

一、大鼠光热法

造模机制：

用小型聚光灯产生一定强度的光束，经凸透镜聚焦照射大鼠的尾巴或家兔鼻部以致痛，大鼠以甩尾为痛反应指标，家兔以甩头为痛反应指标。

方法：

1. **200g**雄性大鼠，装入固定筒内，尾巴外露，先用**75%**乙醇擦净尾部，用墨汁在尾部下**1/3**处标出光刺激点的位置(墨汁能易于吸热)。
2. 调节辐射热测痛仪的焦距，在聚焦的鼠台档板作标记，使鼠尾光刺激点位置与档板上标记重合。每次实验于每日同一时间进行。
3. 照射开始到甩尾反应的潜伏期为**痛阈**。负载电压**20V**，选用潜伏期在**5s**以内的动物。实验开始时先测**3**次，每次间隔**5min**，计算其平均值为**基础痛阈**。
4. 为防止皮肤灼伤，光照截止时间**10s**或以潜伏期升高**150%**为限。

模型评价

大鼠甩尾法操作方便，反应恒定，重复性好，对于筛选麻醉性镇痛药及非麻醉性镇痛药均适用，故使用最多。但甩尾反应是一种脊髓反应，骨骼肌松弛药也可出现阳性结果。

二、小鼠热板法

造模机制

把小鼠放在事先加热到 55°C 的金属板上，以舔后足或跳跃作为疼痛反应指标。

方法：

1. 20g雌性小鼠。
2. 恒温水浴至 $55\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，金属盘的底部接触水面，记录小鼠自投入热板至出现舔后足的时间(s)作为该鼠的痛阈值。
3. 给药前先测定每只小鼠的痛阈(共测2次，以平均值不超过30s者为合格)。给药后每隔0.5-1h测定1次，连续数次。
4. 痛阈值超过60s，即停止测试并按60s计(时间过久，易烫伤足部)。

模型评价

1. 本法简便易行，痛感指标明确易于观察，对组织损伤小，动物可反复利用，为目前常用的方法之一，但对作用较弱的镇痛药不太敏感。
2. 室温对实验有影响，室温过低小鼠反应迟钝，过高则敏感，易引起跳跃。室温在**13-18℃**范围内动物反应波动较小。

记忆动物模型

动物实验前应通过跳台试验(step down test)、避暗试验(step through test)、迷津(maze, 包括Y型迷宫、水迷宫等)进行训练, 使动物建立一定的条件反射, 学习和记忆逃避电击或寻觅食物的能力, 然后给予损害中枢神经系统因素后, 观察动物记忆的保留情况。

一、跳台试验

1. 雄性KM小鼠，体重**25-28g**。（远交系昆明鼠）
2. 跳台试验装置：跳台为**13cm×13cm×17cm**的被动回避反应箱，底板设有铜栅，可通交流电；电压为**30V**。铜栅的一角放置一直径为**4cm**、高**4.5cm**的橡皮圆台为安全区。动物可停留在圆台上回避电击。

3. 先将小鼠放入回避反应箱内自由活动**2min**熟悉环境，然后接通铜栅电源，动物即跳到橡皮圆台上回避电击。
4. 训练小鼠使之在圆台上能持续停留**5min**的目标，记录在达此目标前动物跳下台的次数(错误次数)和每次受到电击的时间总和，并以此作为学习训练的成绩。
5. 学习训练完成后**15min**重新将小鼠放到圆台上，记录**5min**内小鼠跳下台的次数(错误次数)及在台下受电击的时间总和，以此成绩作为第一次记忆试验成绩。**24h**后重复上述试验为第二次记忆试验成绩。

二、水迷宫

1. 体重**250-300 g**雄性大鼠。
2. 跳台反应箱与回避反应箱结构类似而体积较大，为**90cm × 18cm × 60cm**有机玻璃箱，用不透明板分隔为**5**间。箱底为铜栅，通电压为**36V**的交流电，每间内置一高**4.5cm**、直径**6.5cm**的橡皮垫，作为大鼠回避电击的安全区。
3. 整个迷路设置四个盲端，终点有一高出水平面的安全台。水深**20cm**，水温**25℃±2℃**。

4. 学习获得期:

- 1) 正式训练前将大鼠放在安全台附近，让其自行游上终点安全台二次。然后分别从中部和起点让其自行游上终点安全台一次，进行预训练。
- 2) 预训练后选取体重和灵活性等较一致者，每天一次逐只依次游迷宫。以大鼠自迷宫起点游至终点安全台所需要的时间和途中进入盲端的错误次数，作为衡量大鼠学习获得能力的指标。

5. 记忆巩固期:

- 1) 大鼠预训练后, 选取体重和灵活性一致者, 进行水迷宫学习训练。
- 2) 每天每只大鼠**10**次测试, 连续训练**5d**, 以连续**4**次在**10s**内, 进入盲端次数不超过一次, 到达终点作为学会游迷宫的标准。
- 3) 实验处理后, 通过大鼠对已掌握的游迷宫正确途径在**7d**内巩固的程度, 衡量其记忆巩固的能力。
- 4) 以大鼠自迷宫起点游至终点安全台所需要的时间和进入盲端的错误次数作为衡量记忆巩固的指标。

第七节 骨骼系统疾病动物模型

脊髓损伤的动物模型
坐骨神经长段缺损模型

脊髓损伤的动物模型

- ❖ 脊髓损伤分为四大类，即**脊髓撞击伤、脊髓压迫伤、脊髓缺血性损伤及脊髓横断损伤**。脊髓血供丰富，但侧支循环供血较差，易发生缺血。缺血可由脊髓外动脉闭塞引起，也可与脊髓损伤并发而加重损伤。
- ❖ **Allen(1911年)**采用重物坠落撞击脊髓背侧，开创脊髓损伤的标准化实验。但**Allen**法尚存在一些问题，如挫伤脊髓的瞬间，脊髓的侧向偏移，导致脊髓损伤不对称，损伤区大小不恒定。动物的瘫痪程度和持续时间出现较大的差异。

一、脊髓背侧撞击伤法

方法：

1. 常选用猴、犬、猫、兔、大鼠。
2. 麻醉俯卧固定动物。取动物背侧中线切口，在致伤的脊髓节段处逐层切开软组织，切除椎板，显露硬脊膜，在背侧置一块打击板。
3. 在打击板上垂直放置，脊髓端呈凹面与脊髓外形相吻合的有刻度套管，将一重锤套入管内，在一定高度自由下落，重锤撞打击板而间接打击脊髓造成损伤。

评价：

1. 背侧打击模型简单易行，易于复制，与人类脊髓损伤相近。对脊髓的撞击实质上是一种瞬间压迫，撞击力主峰值的时间间隔为**10~50ms**；
2. 通过调整重锤的重量和撞击高度可改变撞击能量，调整打击板的大小、形状等来调整撞击的部位和范围。脊髓损伤的程度由重物撞击脊髓的瞬时速度，打击板击入脊髓的位移距离，撞击力主峰的持续时间决定。

3. 此外由于不打开硬脊膜，可防止结缔组织或其他外来成份侵入损伤脊髓。本模型可用于脊髓损伤的病理生理机制和实验性治疗研究。
4. 撞击脊髓瞬间，常出现脊髓侧向偏移，导致脊髓损伤不对称，损伤区大小不恒定，动物的瘫痪程度和持续时间出现较大差异。因此在撞击前固定动物或脊柱，把打击板做成与脊髓外形相吻合的弧形，可减少上述误差。

二、脊髓压迫伤法

方法：

1. 切除椎板，椎管的开口应位于压迫脊髓节段的上或下1~2个椎体处，将一个顶端连有小球囊的导管从椎管开口处塞入椎管，放置在压迫脊髓节段处的背侧或腹侧硬膜外。
2. 术后24h动物完全恢复时充气。有两种：一是一次将设计充入量打足造成脊髓急性压迫，二是慢性充气，1.5h使动物出现运动症状，此后4h内将气充足。充足气后在X线片可见球囊约占椎管一半。

评价：

1. 脊髓压迫伤的病理变化：压迫部位脊髓广泛破坏，形成空泡或空腔，以中央灰质严重，波及到白质。
2. 本模型可在脊髓任何部位致伤，球囊气体(液体)注入量或压迫时间可任意选择，操作方法简便，实验结果重复性好。
3. 放置小球囊务求准确，使居于脊髓正中，在脊髓腹侧正中有一嵴，充气时可使气囊偏向一侧。
4. 本模型常用于撞击与压迫对脊髓损伤机制的对比研究。

坐骨神经长段缺损模型

周围神经长段缺损的修复仍是临床难题之一。通过外科手术造成实验动物长段周围神经缺损，是研究不同方法促进缺损修复的前提条件。

方法：

1. **220~250g SD大鼠。3%戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔内麻醉。**
2. 无菌条件下，取后肢外侧纵行切口，显露坐骨神经，在距梨状肌出口**0.8cm**处切除坐骨神经**1cm**。必要时在手术显微镜下仔细游离坐骨神经全长，提供切除神经的长度可达**2cm**左右。
3. 在神经断端间可桥接翻转静脉、变性肌桥、几丁质管或硅胶管等，即可检测多种方法修复长段神经缺损的效果。

评价：

1. 术后同侧肢体神经支配区肌肉瘫痪，肌力0级，小腿三头肌诱发肌电图提示去神经性改变。
2. 坐骨神经走行于大鼠下肢侧，手术暴露方便，局部血液循环好，术后不易感染。
3. 本模型可用于周围神经缺损修复的病理生理和神经或非神经组织桥接以及基因治疗神经缺损和多种神经生长因子对大段神经缺损修复等方面的研究。