

四种常用实验动物与人的肝组织形态特征比较

李靖¹, 王艳丽², 刘恩岐^{3*}

(1. 西藏民族大学医学部高原相关疾病分子遗传机制与干预研究重点实验室, 陕西 咸阳 712000;
2. 西安医学院病理教研室, 西安 710021; 3. 西安交通大学医学部实验动物中心, 西安 710061)

【摘要】目的 通过比较四种常用实验动物小鼠、大鼠、豚鼠、家兔的肝与人的肝在组织形态上的相似性, 为肝研究中实验动物的选择提供参考。**方法** 分别取正常小鼠、大鼠、豚鼠、家兔的肝, 从形态特征、分叶、脏器系数、肝细胞核浆比等方面与人的肝进行比较。**结果** 家兔肝的形态与人的最接近, 为不规则楔形及楔形, 二者的核浆比亦最相近, 分别为0.158和0.149。豚鼠与人的肝均为五叶, 且脏器系数最接近, 分别为3.096%和2.35%。**结论** 家兔和豚鼠在组织形态特征上与人更接近, 可能更适合进行肝相关研究。

【关键词】 实验动物; 肝; 组织形态特征; 比较; 实验动物选择

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 09-0074-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.09.013

Tissue morphological characteristics of liver from four commonly used laboratory animals compared with those of human

LI Jing¹, WANG Yanli², LIU Enqi^{3*}

(1. Key Laboratory for Molecular Genetic Mechanisms and Intervention Research on High Altitude Disease of Tibet Autonomous Region, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712000, China.
2. Department of Pathology, Xi'an Medical University, Xi'an 710021. 3. Laboratory Animal Center, Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061)

【Abstract】 Objective To compare the livers of four commonly used laboratory animals (mouse, rat, guinea pig, and rabbit) with the human liver regarding tissue morphology, in order to provide a reference for study of the liver and the choice of laboratory animal. **Methods** Livers of normal mice, rats, guinea pigs, and rabbits were obtained. The morphology, hepatic lobules, organ coefficient, and nucleoplasm ratio of the livers of the four animals were investigated and compared with those of human. **Results** The results showed that the morphological characteristics of rabbit liver were the most similar to those of human liver, and the shapes of rabbit liver and human liver were irregular wedge and wedge, respectively. The nucleoplasm ratio of rabbit was also the closest to that of human, at 0.158 and 0.149, respectively. The hepatic lobules of guinea pig were the closest to those of human, with both five lobules. The liver coefficient of guinea pig was also the closest to that of human, at 3.096% and 2.35%, respectively. **Conclusions** The organization and morphological characteristics of the liver of rabbit and guinea pig are closest to human, so these two animals may be more suitable for liver-related research.

【Keywords】 laboratory animal; liver; tissue morphological characteristics; comparison; laboratory animal choice

[基金项目] 西藏民族大学基金(编号:17MDQ05); 西藏自治区青年基金(编号:XZ2017ZRG-52(Z))。

[作者简介] 李靖(1989—), 女, 助教, 研究方向: 高原病分子机制研究。E-mail: 13193312868@163.com

[通信作者] 刘恩岐(1965—), 男, 教授, 研究方向: 动脉粥样硬化。E-mail: liuenqi@mail.xjtu.edu.cn

实验动物是生命科学研究的基础和重要支撑条件。目前,几乎所有生命科学领域的科研、教学、生产、鉴定、安全评价和成果评定都离不开实验动物。动物实验为现代医学的发展与进步作出了巨大贡献^[1-2]。在动物实验中,选择适当的实验动物对于实验的成败至关重要。实验动物的选择通常要遵循标准原则、相似性原则、差异性原则、相从或相匹配原则、易化性原则、可行性原则、规格化原则等诸多原则^[3],其中相似性原则是保证实验结果有意义的首要前提。基于此,本研究从形态特征和组织学特点入手比较了小鼠、大鼠、豚鼠、家兔这四种常用实验动物的肝与人肝的相似性,以期对肝研究中实验动物的选择提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠 10 只,体重 27 ~ 38 g, 2.5 月龄;SPF 级 SD 大鼠 6 只,体重 370 ~ 445 g, 5 月龄[SCXK (陕) 2014 - 003]。普通级短毛豚鼠 5 只,体重 287 ~ 327 g, 2.5 月龄;普通级日本大耳白兔 4 只,体质量 3020 ~ 3140 g, 6.5 月龄[SCXK (陕) 2015 - 003]。以上实验动物均为雄性,由西安交通大学实验动物中心提供。小鼠、大鼠、豚鼠、家兔的无菌手术在西安交通大学实验动物中心屏障动物实验设施进行[SYXK (陕) 2015 - 002]。实验过程中按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀,本实验研究 IACUC 号:XJTU2011041。

1.2 主要试剂与仪器

任氏液、酒精伊红染色剂、苏木素染色剂(北京雷根生物技术有限公司);中性树胶(广州凯秀贸易有限公司, SJ-604)。电脑生物组织包埋机(北京 Kedee, KD-BM II);切片机(德国 Leica, RM2235);摊片机(西安瑞丰仪器设备有限公司, GTK2001);显微拍照系统(日本 Olympus, DP27);图像分析系统(Image-Pro Plus 6.0);恒温箱(武汉市武昌实互仪器厂, JP-600);电子天平(Mettler Toledo 公司, AB104-S)。

1.3 实验方法

1.3.1 取材

处死小鼠、大鼠、豚鼠、家兔,处死后分别置于电子天平上称量体重并记录数据。固定、消毒、轻轻提起腹部皮肤,沿腹中线向上剪开至喉部,用解剖钳固定两边,露出胸腔及腹腔,用骨剪剪开胸骨

及膈肌,露出肝,观察肝在体内的自然形态。取完整肝,称量肝重量并记录,用任氏液冲洗后,以自然状态置于干净的白瓷盘内,观察其形态、颜色、分叶,并拍照记录。

1.3.2 制作石蜡切片苏木素-伊红染色

从每个肝样本上切取 1 cm × 1 cm × 0.5 cm 大小的肝组织,用 10% 的甲醛固定,脱水、透明与浸蜡、包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色、封固后光镜下观察组织形态^[4]。

1.3.4 显微照片分析

将 HE 染色切片置于显微镜下观察,选取 40 倍物镜下的两个不同视野拍摄显微照片,每张照片中选 20 个成像清晰的细胞,利用图片分析软件测量其细胞面积,细胞核面积,进而计算出胞浆面积和核浆比。

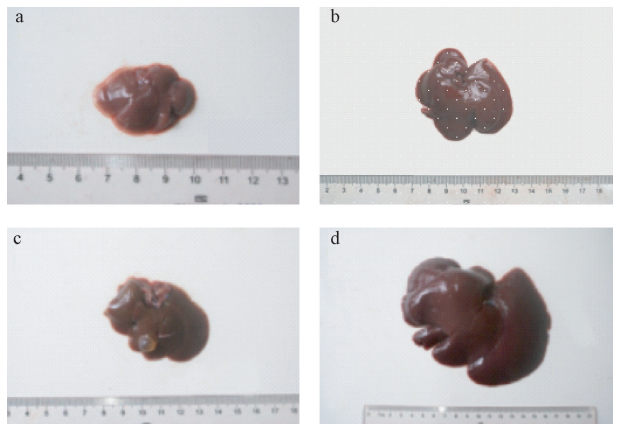
1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。组间比较采用 Mann-Whitney 非参数检验。实验数据以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 肝形态特征及分叶比较

解剖取材后,主要观察肝的外部形态特征,具体记录颜色、质地、边缘、形状、分叶等等。通过典型的形态特征与人类肝进行比较,小鼠、大鼠、豚鼠、家兔的肝(图 1)在颜色、质地和边缘上与人类肝均相似,但在形状和分叶上,家兔肝的形状与人的最接近,而豚鼠肝的分叶与人一致,均为五叶^[5](表 1)。



注:a:小鼠;b:大鼠;c:豚鼠;d:家兔。

图 1 四种常用实验动物的肝

Note. a: Mouse; b: Rat; c: Guinea pig; d: Rabbit.

Figure 1 Livers of four commonly used laboratory animals

2.2 肝脏器系数的比较

实验动物的脏器系数(脏器重量/体重×100%)是其主要的生物学特性之一,是实验动物选择的一个重要指标^[6]。将实验动物处死后称量其体重,解剖取材后称量其肝重,计算脏器系数,与人的脏器系数进行比较,中国男性肝平均重量为1410 g,占体重2.35%^[7]。统计结果显示豚鼠肝的脏器系数与人的最接近,大鼠肝次之,小鼠肝的脏器系数与人的差别最大(表2)。

2.3 肝细胞核浆比的比较

实验动物肝细胞的核浆比(细胞核截面积/细胞截面积)是肝细胞的主要特性之一,也是肝实验中经常用到的一个指标^[8]。整理放大倍数为400倍的显微照片,从中挑选成像清晰的照片(图2),每张照片中选20个细胞,利用图片分析软件测量其细胞

面积,细胞核面积,进而计算出胞浆面积和核浆比,与章宗籍等人^[9]测得的正常人肝的相关数据进行比较。统计结果显示家兔肝细胞的核浆比与人的最接近,大鼠次之,豚鼠肝细胞的核浆比与人的差异最大(表3)。

3 讨论

在生物科学实验中经常需要使用动物,尤其是医学、药学、生物学、兽医学各领域内,许多试验工作,必须借助于动物。因为动物有许多种生物学反应与人相似,虽不能完全一样,但可作依据或参考^[1]。以实验动物作为研究对象的研究方法也越来越多,所以,尽量选择与人类相似的动物作为实验对象已成为决定实验成败的一个关键环节,也是医学实验动物学兴起的一个重要原因。实验动物的选择主要遵循以下几点:一是尽量选择研究对象

表1 四种常见实验动物与人的肝形态特征比较

Table 1 Morphological characteristics of the liver from four commonly used laboratory animals compared with those of human			
	颜色、质地、边缘 Color, texture, edge	形状 Shape	分叶 Hepatic lobule
小鼠 Mouse	暗红色,质软,边缘光滑 Kermesinus, soft texture, smooth edge	不规则钝圆 Irregular circle	六叶 Six lobules
大鼠 Rat	暗红色,质软,边缘光滑 Kermesinus, soft texture, smooth edge	不规则钝圆 Irregular circle	六叶 Six lobules
豚鼠 Guinea pig	暗红色,质软,边缘光滑 Kermesinus, soft texture, smooth edge	不规则钝圆 Irregular circle	五叶 Five lobules
家兔 Rabbit	暗红色,质软,边缘光滑 Kermesinus, soft texture, smooth edge	不规则楔形 Irregular wedge	六叶 Six lobules
人 Human	暗红色,质软,边缘光滑 Kermesinus, soft texture, smooth edge	楔形 Wedge	五叶 ^[5] Five lobules ^[5]

表2 四种常用实验动物与人肝脏器系数的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Liver coefficient in four commonly used laboratory animals compared with that of human			
	体重(g) Body weight	肝重(g) Liver weight	肝重/体重 Liver weight/Body weight
小鼠 Mice	33.54 ± 5.521	1.7512 ± 0.329	0.052 156 ± 0.005
大鼠 Rats	407.166 ± 37.791	16.473 33 ± 2.056	0.040 564 ± 0.005
豚鼠 Guinea pigs	307.6 ± 18.929	9.524 ± 0.503	0.030 962 ± 0.001
家兔 Rabbits	3080 ± 58.878	139.75 ± 2.5	0.045 373 ± 0.001
人 Human	60 000 ^[7]	1410 ± 200 ^[7]	0.0235 ^[7]

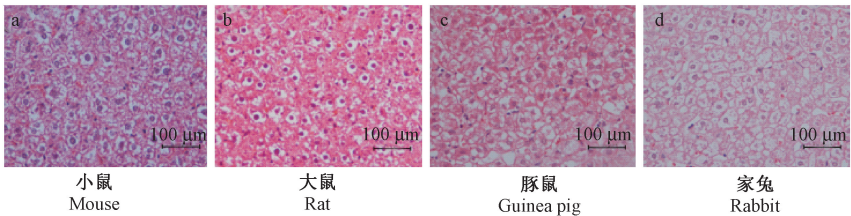


图2 四种常用实验动物肝组织的 HE 染色切片(×400)

Figure 2 HE staining of liver tissues of four commonly used laboratory animals

表 3 四种常用实验动物与人肝细胞核浆比的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Nucleoplasm ratio of the liver from four commonly used laboratory animals compared with that of human

	细胞面积(μm^2) Area of cell	细胞半径(μm) Cell radius	核面积(μm^2) Area of nucleus	核半径(μm) Nuclear radius	胞浆面积(μm^2) Area of cytoplasm	核浆比 Nucleoplasm ratio
小鼠 Mice	1493. 499 $\pm$ 472. 555	21. 567 $\pm$ 3. 242	221. 390 $\pm$ 58. 730	8. 325 $\pm$ 1. 096	1272. 109 $\pm$ 449. 080	0. 187 $\pm$ 0. 061
大鼠 Rats	1579. 711 $\pm$ 444. 995	22. 208 $\pm$ 3. 145	168. 773 $\pm$ 31. 515	7. 300 $\pm$ 0. 661	1410. 937 $\pm$ 442. 223	0. 132 $\pm$ 0. 048
豚鼠 Guinea pigs	1062. 603 $\pm$ 251. 833	18. 256 $\pm$ 2. 25	171. 108 $\pm$ 19. 338	7. 367 $\pm$ 0. 444	891. 495 $\pm$ 243. 791	0. 192 $\pm$ 0. 063
家兔 Rabbits	1430. 838 $\pm$ 464. 940	21. 063 $\pm$ 3. 480	176. 237 $\pm$ 30. 904	7. 461 $\pm$ 0. 667	1254. 601 $\pm$ 453. 868	0. 158 $\pm$ 0. 061
人 Human	1154. 157 $\pm$ 310. 827 ^[9]	19. 001 $\pm$ 2. 550 ^[9]	139. 460 $\pm$ 41. 607 ^[9]	6. 602 $\pm$ 0. 912 ^[9]	1014. 697 $\pm$ 299. 662 ^[9]	0. 149 $\pm$ 0. 060 ^[9]

的功能、代谢、结构及疾病性质与人类相似的实验动物;二是选择解剖、生理特点符合实验目的要求的实验动物;三是根据实验动物不同品种、品系的特点选择实验动物;四是根据对实验质量的要求选择标准化的实验动物;五是符合实验动物选择的一般原则(性别、年龄、体重、生理状况与健康状况、实验条件等);六是经济性原则^[10]。

本实验所选的四种实验动物分别为:小鼠,哺乳纲、啮齿目、鼠科、小鼠属;大鼠,哺乳纲、啮齿目、鼠科、大鼠属;豚鼠,哺乳纲、啮齿目、豚鼠科、豚鼠属;家兔,哺乳纲、兔形目、兔科、穴兔属。以上四种动物均为生命科学研究中常用的实验动物。从亲缘关系来看,小鼠、大鼠、豚鼠为哺乳纲、啮齿目,家兔为兔形目,与人类的亲缘关系均相似。但有实验通过研究耳蜗中存在的 *PDE* 基因在不同组织的表达情况得到结论:与小鼠和家兔相比豚鼠与人 *PDE* 基因序列同源性更高,提示豚鼠与人可能有着更近的亲缘关系,此研究从另外一个角度上增强了豚鼠作为疾病研究模式的可行性^[11]。小鼠作为常用的实验动物,其在肝研究方面的应用非常广泛,不仅可作为肝癌等肝疾病模型动物^[12],还有研究使用人源化小鼠和人肝嵌合体小鼠进行肝疾病的研究^[13],这也为肝疾病研究提供了新的思路。有研究也使用大鼠作为高脂高铁诱导肝纤维化的动物模型^[14]。近年来,家兔也被用作动脉粥样硬化及血脂代谢相关疾病的动物模型^[15-16]。从肝组织形态特征来看,大鼠的肝缺少胆囊,不能选作胆囊方面及与胆囊相关方面的研究。家兔的肝外形与人类相似,而豚鼠的分叶情况和脏器系数均与人类最接近。从肝细胞核浆比来看,家兔的肝细胞核浆比与人类最接近。此结果提示在肝相关研究中使用豚鼠和家兔作为实验动物可能更为合理。

参考文献:

[1] 张永江,陈洪岩,夏长友. 实验研究中实验动物的选择及其相关干扰因素 [J]. 中国实验动物学杂志, 2002, 12(5): 316-319.

[2] 李雪梅,周雪,迟成涛,等. 在中医药学中动物实验与实验动物的选择 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(2): 305-308.

[3] 于远望,于莉莉,张淑珍. 中医药科研实验动物的选择原则 [J]. 陕西中医学院学报, 2002, 25(4): 50-52.

[4] 蔡晓雯,沈武成. 石蜡切片 HE 染色的体会 [J]. 医药论坛杂志, 2011, 32(1): 167-170.

[5] 林威刚. 肝脏影像学分叶和实际解剖分叶之间的差异性研究 [D]. 大连医科大学, 2012.

[6] 孙建新,安娟,连军. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 49-51.

[7] 王继先,李本孝,陈如松,等. 中国人主要脏器重量参考值 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 1995, 15(4): 248-254.

[8] Baak JP. The principles and advances of quantitative pathology [J]. Anal Quant Cytol Histol, 1987, 9(2): 89-95.

[9] 章宗籍,申丽娟,欧阳明,等. 人体慢性肝病和肝癌的定量病理诊断研究:慢性肝病及肝癌的形态定量分析 [J]. 昆明医学院学报, 2001, 22(1): 5-8.

[10] 邵义祥. 医学实验动物学教程 [M]. 南京:东南大学出版社, 2008: 105-108.

[11] 黄敏齐. 豚鼠磷酸二酯酶基因 cDNA 的鉴定与分析 [D]. 广州医学院, 2009.

[12] 李顺,陈丽香,彭秀华,等. 小鼠肝癌模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(2): 213-216.

[13] 任晓楠,周晓辉. 用于肝脏疾病研究的人源化小鼠模型概述 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(5): 95-99.

[14] 何宏星,陈洁,黄芳,等. 高脂高铁致大鼠肝纤维化模型的初探 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(6): 648-653.

[15] 高守翠,成大欣,赵四海,等. 胆固醇酯转移蛋白转基因家兔制作及生物学特性分析 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(4): 331-335.

[16] 沈晓京,赖炳森,吴红梅,等. 天然配比油对家兔肝组织中脂肪酸的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(1): 39-42.