

上海交通大学实验动物中心公共细胞培养平台管理经验探讨

彭丽娜, 张曼, 艾敏, 徐汪节

(上海交通大学实验动物中心, 上海 200240)

[摘要] 公共细胞培养平台作为实验动物设施中一个重要的配套设施, 是实验动物肿瘤疾病模型以及转基因动物制备等科学研究的重要支撑。实验动物中心搭建公共细胞培养实验平台, 能充分整合实验动物和细胞培养资源, 更为高效、合理地配置相关科研资源, 便于科研人员更好地开展研究。实验动物中心公共细胞培养平台内培养的细胞大部分用于动物实验, 细胞如果存在污染或者质量问题, 不但影响实验结果, 还会影响实验动物健康, 造成实验动物的微生物感染, 严重者甚至会扩散污染整个动物饲养设施。因此实验动物中心的公共细胞培养实验室在细胞质量把控上相比常规的细胞培养室更为严格。本文以上海交通大学实验动物中心公共细胞培养平台为例, 从设施维护与管理、人员管理、细胞生物风险质控管理等三个主要控制点对公共细胞培养室的管理经验进行了探讨, 以期为国内其他实验动物机构的公共细胞培养实验室管理提供有益借鉴。

[关键词] 细胞培养室; 设施维护与管理; 人员管理; 细胞生物风险质控管理

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)02-0227-07



Discussion on Management Experience of Public Cell Culture Platform in Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University

PENG Lina, ZHANG Man, AI Min, XU Wangjie

(Laboratory Animal Center, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Correspondence to: XU Wangjie (0009-0007-2049-5169), E-mail: hover_xwj@sjtu.edu.cn

[ABSTRACT] Public cell culture platform is an important facility in laboratory animal facilities, providing essential support for scientific research such as the development of animal tumor disease models and transgenic animals. By establishing a public cell culture experimental platform, laboratory animal centers can effectively integrate experimental animals and cell culture resources, optimizing the allocation of scientific research resources to facilitate better research outcomes. The majority of cells cultured in these platforms are used for animal experiments. Contamination or quality issues in these cells not only affect experimental results but also jeopardize the health of experimental animals, potentially leading to microbial infections and contamination of entire animal facilities. Therefore, public cell culture laboratories within experimental animal facilities impose stricter quality control measures than conventional cell culture rooms. This study takes the public cell culture platform at the Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University as a case study to discuss management experiences, focusing on facility maintenance and management, personnel management and quality control of cell biological risk. The aim is to provide useful reference for the management of public cell culture laboratories in experimental animal facilities and other institutions.

[基金项目] 中国高等教育学会 2022 年度高等教育科学研究规划课题“探究高校实验动物管理‘集成信息化’建设的必要性及对策思考” (22SY0222)

[第一作者] 彭丽娜 (1983—), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 实验动物环境与微生物质量控制。E-mail: linapeng@sjtu.edu.cn。ORCID: 0009-0001-1985-4271

[通信作者] 徐汪节 (1977—), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 环境因素与生殖发育, 实验动物模型研究。E-mail: hover_xwj@sjtu.edu.cn。ORCID: 0009-0007-2049-5169

[Key words] Cell culture laboratory; Facility maintenance and management; Personnel management; Cell biological risk quality control management

细胞培养技术是生命科学研究各领域中一种最基本、最重要、应用最广泛的技术之一^[1]。细胞培养是指在体外环境中,人为地建立细胞生长的培养和支撑体系。细胞培养室简化了复杂的生命体,避免了直接生命研究的伦理局限,也使研究的干扰因素和经济耗费减少^[2]。随着生命科学研究的不断深入,细胞培养技术结合显微操作技术以及实验动物,构建基因编辑模型小鼠以研究某特定基因功能,或通过建立肿瘤疾病动物模型,进行人类疾病的发生、发展机制以及预防和治疗等方面的研究,是实现精准医疗的重要工具,也是基础科学研究、转化医学研究的必要手段,在人类疾病研究和新型药物研制和开发等生命科学领域都有着重要的意义。因此,实验动物中心的公共细胞培养平台除了保障和提高实验动物质量外,还需要通过加强细胞培养过程中的设施管理、人员管理和质控管理,建设与之相匹配的细胞培养实验室,从而保障以实验动物和细胞为材料的生命科学研究结果的科学性、可靠性及可重复性^[3-5]。

上海交通大学实验动物中心(闵行校区)是校级实验动物科研平台,一直致力于优质服务平台的建设。为提升本校在生命科学研究领域的重大前沿基础研究水平,本中心除建设了实验动物基础饲养设施外,还搭建了公共细胞培养平台等多种专业技术服务平台,配备先进的仪器设备和专业的技术及管理人员。公共细胞培养平台除了支撑本校的生命科学、农学、医学、药学、材料科学等学科发展外,也为校外科研用户提供便利条件。本文以上海交通大学实验动物中心公共细胞培养平台为例,从设施管理、人员管理以及质控管理3个方面进行介绍,以期对其他高校和机构的公共细胞培养实验室的污染防控管理提供有益借鉴。

1 设施维护与管理

公共细胞培养平台属于实验动物中心主体即动物饲养屏障的配套设施,建于实验动物饲养屏障外,便于各平台间单独维护和管理,避免和动物饲养屏障交叉污染。公共细胞培养平台的使用对象包括本中心技术人员,以及校外服务用户。校外用户通过自主操作或者委托中心技术人员操作的方式来开展细胞相关的各项实验。

1.1 设施运行管理方式

公共细胞培养平台主要分为两个功能模块:一个用于肿瘤动物模型制备的体外细胞培养,另一个用于基因编辑动物模型平台相关技术的体外细胞实验。因此,针对这两种不同类型的实验需求,将细胞培养平台分成两个单独的功能性细胞培养室,每个细胞室承担一个功能模块。从管理方式上实行集中统一管理,即两个培养室采用相同的管理规定和规章制度;同时针对不同的实验类型,在空间上实行分类管理,即两个培养室除更衣室共用外,人员通道、物品传递和传出、培养室内的仪器设备使用以及细胞培养操作、设施消毒等均完全分开。如果一个培养室出现污染,需要灭菌后重启,不会影响另一间培养室的使用。这种管理方式,既能从管理上做到统一标准和要求,又能有效避免操作过程中的相互影响及交叉污染。

1.2 设施维护与消毒

公共细胞培养室按照屏障设施要求建造,有独立的送排风,采用全新风系统,配有高、中、低效过滤器,空气洁净度达到7级。根据本实验动物中心制定的《初、中、高效过滤器的使用和更换操作规程》,定期维护和更换初、中、高效过滤器是保障细胞室屏障环境质量安全的第一道防线。细胞室内定期开启和更换各种紫外灯以及进行环境落下菌和尘埃粒子数的检测,从而有效保障细胞培养室内的空气洁净度。如果环境落下菌和尘埃粒子数检测不合格,就需要更换过滤器并加强室内消毒。具体做法如表1。

公共细胞实验平台由于实验人员来源复杂、人员流动性大、仪器设备使用频率高、仪器操作时间不固定、实验物品种类繁多等因素,设施内部环境微生物污染的概率大大增加,因此消毒工作应更加严格。通过对比测试多种消毒剂不同使用浓度的消毒效果、消毒作用时间及其稳定性、腐蚀性、安全性能,并充分考虑细胞室内各种仪器设备的性质和特点以及人员防护安全等因素,选用杀孢子剂和75%乙醇溶液两种消毒剂对设施环境、实验物品、仪器设备以及人员防护用品等实施消毒。根据不同区域对微生物的控制要求以及人员操作频率,按照次、天、周、月的消毒频率,采用高压灭菌、化学和物理等多种消毒和灭菌方式相结合,从而保障细胞培养室内环境质量安全。具体做法如表2~3。

表1 上海交通大学实验动物中心细胞培养实验室的硬件设施维护频率

Table 1 Maintenance frequency of hardware facilities in cell culture laboratories of Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University

设备维护项目 Maintenance projects	每次 Each time	每天 Daily	每月 Monthly	每季度 Per quarter	每半年 Semiannually	每年 Per annum
初效过滤器 Primary efficiency filter			②	③		
中效过滤器 Medium efficiency filter					③	
高效过滤器 High efficiency filter						③
传递窗中紫外灯 Ultraviolet lamp in delivery window	①			③		
生物安全柜中紫外灯 Ultraviolet lamp in biosafety cabinet	①			③*		
细胞培养室中紫外灯 Ultraviolet lamp in cell culture room		①			③	
落下菌检测 Airborne bacteria detection			④			
尘埃粒子检测 Dust particle detection				④		

注：①开启；②擦拭消毒；③更换，*或根据安全柜显示提醒；④检测。

Note: ①On; ②Wipe disinfection; ③Switch, *or according to the reminders displayed on the safety cabinet; ④Detection.

表2 上海交通大学实验动物中心细胞培养实验室内的清洁及消毒频率

Table 2 Frequency of cleaning and disinfection in cell culture laboratories of Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University

消毒物品或位置 Sterilized items or locations	每次 Each time	每天 Daily	每周 Weekly	每月 Monthly
实验室台面 Laboratory countertop	②③	①④		
生物安全柜台面 Biosecurity countertop	①②③			
仪器操作台面 Instrument operating table	②	①④		
细胞培养室 Cell culture room		①④		
传递窗 Delivery window	①③	②		
进出口缓冲间 Inlet and outlet buffer		①③④		
冰箱 Icebox			②	
二氧化碳培养箱内部及水盘 Carbon dioxide incubator inside and water tray			②	
置物架 Storage shelf		①④	②	
储物柜 Locker		①④	②	
门 Door		①④	②	
墙壁 Wall		①④	②	
天花板 Ceiling		①④		②

注：①紫外线消毒；②擦拭消毒；③喷雾消毒；④臭氧消毒。

Note: ①UV disinfection; ②Wipe disinfection; ③Spray disinfection; ④Ozone disinfection.

1.3 设施规章制度

健全的规章制度是细胞培养实验室安全、高效运行的有力保障。没有规矩不成方圆，完善的规章制度是实验室标准化管理的前提，只有当实验室的各项工有章可循，并从根本上杜绝各类潜在隐患发生，才能可持续地加强实验室的建设与发展^[6]。针对细胞培养室的硬件和软件设施，从人员、物品、仪器设备、消毒及实验技术等各个方面分别制定行之有效的管理规定和操作规程，如《细胞培养室使用管理规定》《实验室及仪器设备使用管理制度》《物品进出细胞培养室管理规定》《细胞培养室清洁消毒操作规程》《仪器使用操作规程》等，使其在运行时做到有章可循，规范

执行。

1.4 设施安全管理

实验室的安全管理关系到实验质量、设施安全、实验人员健康、环境保护等重要问题，在很多国家及行业标准中占有重要位置，因此应引起重视^[7]。实验室安全是保障实验室正常运行的重中之重，除了严格遵守学校规定的《实验室安全守则》外，实验动物中心还制定了本部门的《实验室安全管理办法》和《突发事件应急管理制度》。通过实验室负责人每日安全检查、安全员每周定期巡查以及直属单位每月巡检和学校不定期抽检等多种方式，多方位、全方面保障细胞培养室的安全运行。(1) 设施安全：每天检查设施运

表3 各种实验用物品进入上海交通大学实验动物中心细胞培养实验室的消毒方式

Table 3 Various methods of disinfection of laboratory items entering cell culture laboratories of Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University

实验物品 Experimental item	高压灭菌 Autoclave	化学消毒 Chemical disinfection		物理消毒 Physical disinfection
		杀孢子剂 Sporicide	75%乙醇溶液 75% alcohol	紫外线+臭氧 UV+Ozone
防护用品 Protective equipment				
防护服 Protective suits	√			
拖鞋 Slippers		√		√
口罩 Face masks*		√		√
帽子 Hats*		√		√
手套 Gloves*		√		√
实验用品 Laboratory supplies				
超纯水 Ultrapure water	√			
擦拭纸 Wiping paper	√			
离心管 Centrifuge tubes	√			
细胞 Cell*			√	
细胞计数板 Cell counting plates*		√		√
细胞培养耗材 Cell culture consumables*		√		√
细胞培养试剂* Cell culture reagents*		√		√
仪器设备 Instruments and equipment				
移液器 Pipettors			√	√
精密小型仪器 Precision small instruments			√	√
小型仪器 Small instruments		√		√
大型仪器 Large instruments		√		√

注：*外包装。

Note: *Outer packing.

行状态，包括送排风、空调、压差等是否正常；每日下班前，确认水、电、门、空调为正常状态。(2) 仪器安全：每日检查二氧化碳钢瓶、培养箱等仪器的安全状态，如钢瓶的固定是否安全、钢瓶内气体量是否充足，培养箱的温度、气体控制等是否正常。(3) 人员安全防护：进入细胞培养室前，需严格做好个人防护措施，按照防护鞋—手套—帽子—口罩—防护服的顺序穿戴整齐，双手经75%乙醇溶液喷雾消毒后方可进入细胞培养室。(4) 生物安全：所有细胞培养及实验操作均应在生物安全柜内进行，并严格实行废弃物分类处理；细胞培养物及相关试剂废液放入专门的废液收集桶，细胞培养相关废弃耗材放入黄色生物垃圾桶；所有生物污染废弃物最终经集中灭菌后无害化处理。

2 人员管理

相比于其他科研机构，高校实验室有一个显著特点是人员管理的复杂性，由于科研人员流动性大和实验时间上不固定，所以在管理上存在难点^[8]。特别是

一些非生物专业背景的学生普遍缺乏细胞培养方面的相关知识，对细胞培养操作没有相关经验，如果管理上稍有疏忽，就有可能使细胞培养室从屏障设施降为普通实验场所。因此，在细胞培养室管理制度中，应增加系统的规章制度培训和细胞培养技术操作培训的频次，并且加强现场巡查指导和纠错机制^[9]。

2.1 培训管理

实验人员的培训主要包括：细胞培养室的规章制度和管理规定；细胞培养室内常规仪器使用操作规程；细胞培养相关试剂（完全培养基、细胞冻存液等）配制方法；传代细胞培养、原代细胞分离、体外细胞转染、细胞毒性实验等各类细胞操作技术；细胞冻存及复苏等实验原理及注意事项；细胞染色、细胞计数等基本实验方法。所有实验人员必须通过线上理论学习和线下实操培训，通过考核后，方可独立开展细胞培养实验操作。

2.2 预约管理

所有实验人员需提前24 h在线预约细胞培养室的操作时间。在同一时间段，每间细胞室的每台生物安

全柜内只允许开展一项细胞实验。预约使用细胞室能有效避免实验时间冲突和交叉污染,使得细胞培养室公共资源利用最大化。

2.3 监督管理

细胞培养实验室的环境维护、细胞实验的质量和安​​全都离不开对人员的监督管理。实验动物中心可通过设置各区域的门禁系统、监控系统,并展开不定期巡检等途径,对操作人员进行全方位实时监督,及时制止和纠正违规操作。

3 细胞生物风险质控管理

3.1 细胞生物安全风险评估

随着人/动物细胞培养内容的不断增加,细胞培养技术的生物安全问题即与人类健康和环境因素相关的风险愈加受到关注。最大限度地减少这些风险需要通过生物安全风险评估来确定,并要考虑细胞培养操作的类型和细胞培养潜在的生物危害。人/动物细胞培养风险评估与细胞特点、遗传修饰和致病因子感染获得的特征以及实验操作类型都有密切关系。实验动物相关的细胞实验,如肿瘤细胞的传代培养、原代细胞分离等操作涉及的生物危害风险,主要包括细胞来源、细胞或者组织类型、外来感染因子以及培养类型等因素。动物细胞和非人灵长类动物细胞的风险指数低于人类细胞;上皮和纤维原细胞、肠黏膜和内皮细胞风险指数低于神经组织和造血细胞;细菌、真菌、寄生虫以及支原体的风险指数低于病毒和朊病毒;状态良好的持续细胞系风险指数低于原代细胞系^[10]。

安全、可靠的细胞来源是把控细胞质量的关键所在,同时也是保护人类、动物健康和环境安全的必要条件。首先,推荐实验人员优先从本平台的细胞资源库里选用细胞株,本平台所有冻存细胞均购自优质的细胞供应商,且经过支原体阴性验证。其次,推荐实验人员从质量稳定的优质供应商处购买细胞株,并且每批次进行支原体复检验证。这样能保障细胞的质量、遗传特性以及无交叉污染,从而最大限度地降低细胞的生物污染风险。优质的细胞供应商一般会满足以下几个条件:(1)细胞运输装置防震且包裹较严实,细胞瓶外包装完好;(2)贴壁细胞贴壁较紧实、无飘落,细胞形态符合其特征;(3)提供详细的说明书,包含细胞来源、特征、培养及冻存条件等;(4)提供细胞短串联重复序列(short tandem repeats, STR)鉴定结果;(5)提供支原体检测报告。细胞来源的最大污染

风险是细胞株来自某些细胞培养操作不严谨的课题组、研究机构或者医院的实验室,一般不推荐使用。特殊情况需要使用时,需由供方提供一周之内的支原体检测阴性结果,并且在细胞到达后,先培养在隔离培养箱内,再次验证支原体为阴性时方可转到常规培养箱内继续培养。

3.2 细胞培养操作要求

除了细胞生物安全风险把控外,细胞培养操作也至关重要。离体细胞对病原微生物及病毒无抵抗力,无菌操作是整个细胞体外培养成败的关键。细胞一旦感染,将因被夺营养物质而生长缓慢或停滞,甚至死亡。因此,从接触细胞培养实验开始,实验人员就要形成严格的无菌观念^[11]。细胞培养操作对实验人员的理论知识,以及物品使用、操作方法、实验结束后处理等方面技能都有严格要求。所有进出生物安全柜内的物品均需用75%乙醇溶液喷雾消毒后才可使用。使用的培养耗材和试剂,应严格按照最小包装或者分装的最小剂量使用。非公共试剂和耗材需要做好明确的标识,写明实验人、日期、浓度、有效期等信息。操作人员需严格按照无菌操作要求进行操作,出现任何可疑的污染动作应立刻停止,消毒双手并更换试剂或者耗材。操作结束后,所有操作台面和物品应及时整理、消毒,所有废弃物按照要求分类存放并最终进行无害化处理。

3.3 细胞运输、传递及保存

细胞培养至合适的状态和数量后,收集并进行细胞计数,稀释至实验所需的浓度,将其运输和传递至饲养屏障内使用。此过程的污染风险把控也十分重要,细胞在运输和传递过程中一旦污染,不仅影响实验进度,也会给动物饲养屏障带来外来因子的感染风险。

3.3.1 细胞收集和运输

细胞收集后分装于1.5 mL或2.0 mL无菌离心管中,用封口膜封好,通过冰盒(已消毒,4℃冰箱预冷)将细胞通过传递窗传出细胞培养室。如果实验所需细胞数量比较多,建议少量多次收集,最大程度保证细胞活力。

3.3.2 细胞传递

将细胞离心管以及冰盒分别进行表面消毒,然后将冰盒放入动物屏障专用物品传递窗内,并盖上已消毒的不透明卡片(遮盖细胞离心管,防止细胞被紫外照射损伤),再次喷雾消毒冰盒,并经15 min紫外线照射后传递进屏障内。

3.3.3 细胞保存

线下保存：收集细胞（支原体检测阴性），加入冻存液，分装于细胞冻存管中，标记好细胞名称、细胞代数、冻存时间、操作人等信息后，将其放在 -80°C 冰箱暂存，并最终放入液氮罐中长期保存。线上保存：将冻存细胞的信息及时登记到细胞库中，要求标记细胞名称、细胞来源、细胞代数、培养条件、冻存位置、操作人员、支原体检测结果等信息，便于后续查询和复苏使用。细胞库需要相关负责人定期维护，包括将冻存的细胞定期进行复苏以验证其活力，对传代次数比较多或者状态不好的细胞进行及时淘汰和补充。

3.4 细胞污染应急处置

细胞污染是细胞培养室面临的巨大威胁。细胞污染一旦蔓延，势必造成更大的不可挽回的损失，并需要投入更多的时间、人力和物力进行治理。因此，预防和避免细胞污染成为本平台细胞培养室管理的第一要务^[11]。常见的细胞污染包括细菌、真菌（霉菌）、支原体以及黑胶虫等。如果培养过程中发现细胞污染，实验人应立即上报管理员。首先需找出污染的原因，根据原因把控污染扩散或者传播的风险。同时，应及时将污染的细胞及相关试剂和耗材进行灭菌处理，并对涉及污染的细胞培养区域及其内部仪器和物品严格消毒后再使用。发生严重污染时，需要对整个细胞培养平台进行彻底消毒，并经过过氧化氢灭菌后方可重新启用。

4 结语

实验动物中心搭建公共细胞培养或实验平台，能充分整合实验动物和细胞培养资源，更为高效、合理地配置相关科研资源，便于科研人员更好地开展研究。由于细胞培养要求无菌操作，相比其他实验室，细胞培养平台对实验人员的实验技术及操作规范有更高的要求。只有建立健全的规章制度，明确使用权限，完善管理体系，才能保证科研实验顺利进行，从而使平台运行更高效、完善和科学化^[12]。

近年来，国内外实验动物机构开始探索和实践实验动物安全管理模式，逐步重视实验动物生物安全问题。由于动物实验所用的实验材料都将与实验动物直接接触，实验材料携带微生物污染必将影响实验动物的健康，进而影响动物实验数据的可靠性，还可能造成动物发病并在屏障设施内传播，所以对实验动物材料进行检控就显得十分必要和重要^[13]。各种来源的生

物材料，包括细胞、组织、生物制剂等，在进入实验动物屏障设施并进行动物实验前，都需要做安全性检测，以防止存在人源或动物源传染病原的生物材料在实验动物上使用^[14]。细胞在培养过程中会受到细菌、真菌、支原体、病毒、寄生虫等外来生物污染因子的影响，在这些影响因素中，支原体污染的危害相对严重，无论是影响范围、检测难度还是防治等方面都存在比较难以处理的情况^[15]。除本平台外，走访调研发现国内清华大学、复旦大学、中国科学院分子细胞科学卓越创新中心等多家高校及研究所的实验动物机构针对各种来源的可传代的肿瘤细胞，均要求提供细胞质量合格检测证明，一般包括支原体检测结果和细胞中STR鉴定报告。

实验动物中心公共细胞培养平台内培养的大部分细胞用于接种实验动物，如果存在污染或者质量问题，不但影响实验结果，还会影响实验动物健康，严重者甚至会扩散污染整个动物饲养设施。因此，实验动物中心的细胞培养平台在细胞质量把控上要比常规的细胞培养室更为严格。通过十多年的管理经验累积，本平台目前累计冻存70余种细胞系，服务校内外60多个课题组或用户，支撑各类细胞实验项目完成近百项，细胞污染控制率达到95%以上。上海交通大学实验动物公共细胞培养平台已经形成了一套完整的管理和质控体系，能够有效地降低细胞污染概率，为生、农、医、药等科研领域产出高质量研究成果做好服务和支撑。

[作者贡献 Author Contribution]

彭丽娜负责撰写方案策划，初稿写作及修改；
张曼负责调查研究，参与文章撰写思路探讨；
艾敏负责查阅及引用文献；
徐汪节负责撰写方案审定及写作审修。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] 徐加英, 秦立强, 曹建平, 等. 细胞培养室管理的研究与探索[J]. 中国实用医药, 2008, 3(36):249-250. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7555.2008.36.205.
XU J Y, QIN L Q, CAO J P, et al. Research and exploration on the management of cell culture room[J]. China Pract Med, 2008, 3(36): 249-250. DOI: 10.3969/j. issn. 1673-7555.2008. 36.205.
- [2] 陈功星, 王世贵, 俞诚, 等. 普通细胞培养室的建设与管理[J]. 实验室研究与探索, 2011, 30(11): 151-154. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7167.2011.11.042.

- CHEN G X, WANG S G, YU C, et al. Construction and management of ordinary cell culture laboratory[J]. Res Explor Lab, 2011, 30(11): 151-154. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7167.2011.11.042.
- [3] 李晶晶, 刘磊, 潘艳, 等. 细胞室的布局、管理与日常维护探析[J]. 绿色科技, 2017(10):232-233. DOI: 10.16663/j.cnki.lskj.2017.10.087.
- LI J J, LIU L, PAN Y, et al. Analysis on establishment, management and maintenance of cells laboratory[J]. J Green Sci Technol, 2017(10): 232-233. DOI: 10.16663/j.cnki.lskj.2017.10.087.
- [4] 刘丽月, 彭宗林. 分权限开放 提高透射电镜的使用率[J]. 实验室研究与探索, 2016, 35(6): 280-283.
- LIU L Y, PENG Z L. Opening with different permissions and improving use efficacy of TEM[J]. Res Explor Lab, 2016, 35(6): 280-283.
- [5] 王筱冰, 王海萍, 张坤, 等. 研究生"细胞培养"课程教学实践及思考[J]. 实验室科学, 2018, 21(4):120-122, 126. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4305.2018.04.032.
- WANG X B, WANG H P, ZHANG K, et al. Teaching practice and thinking of graduate cell culture course[J]. Lab Sci, 2018, 21(4):120-122, 126. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4305.2018.04.032.
- [6] 张亚楠, 陈炜, 龚淼, 等. 医学院校实验室规范化管理的探索与实践[J]. 河北医科大学学报, 2019, 40(7):866-868. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2019.07.029.
- ZHANG Y N, CHEN W, GONG M, et al. Exploration and practice of standardized laboratory management in medical colleges and universities[J]. J Hebei Med Univ, 2019, 40(7): 866-868. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2019.07.029.
- [7] 崔冬生, 李增宁, 顾平, 等. 细胞培养室管理规则[J]. 华北煤炭医学院学报, 2004, 6(3):395-396. DOI: 10.19539/j.cnki.2095-2694.2004.03.125.
- CUI D S, LI Z N, GU P, et al. Management rules of cell culture room[J]. J N China Coal Med Coll, 2004, 6(3):395-396. DOI: 10.19539/j.cnki.2095-2694.2004.03.125.
- [8] 王志昇, 陈健茂, 李红兵, 等. 我校屏障环境动物实验室管理初探[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(2): 156-158. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2014.02.016.
- WANG Z S, CHEN J M, LI H B, et al. Preliminary study on the management of barrier environment animal laboratory in our school[J]. Lab Anim Comp Med, 2014, 34(2): 156-158. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2014.02.016.
- [9] 严冬琳, 江宏兵, 潘永初, 等. 医学实验室液氮操作的风险分析、控制和应急处置[J]. 科教导刊, 2021(31): 147-149. DOI: 10.16400/j.cnki.kjdk.2021.31.049.
- YAN D L, JIANG H B, PAN Y C, et al. Risk analysis, control and emergency operations in medical laboratory when using liquid nitrogen[J]. Guide Sci Educ, 2021(31): 147-149. DOI: 10.16400/j.cnki.kjdk.2021.31.049.
- [10] 徐莉, 刘敏, 徐吉, 等. 动物细胞培养中的生物安全问题与风险评估研究[J]. 中国自然医学杂志, 2008, 10(1):68-71.
- XU L, LIU M, XU J, et al. Biosafety issues and risk assessment in animal cell culture[J]. Chin J Nat Med, 2008, 10(1):68-71.
- [11] 杨迷芳, 江宏兵, 王林, 等. 公共实验平台细胞培养室污染风险分析和管理措施[J]. 教学管理, 2022, 36(12):50-53.
- YANG M F, JIANG H B, WANG L, et al. Risk analysis and management measures of pollution in cell culture room of public experimental platform[J]. J Teach Manag, 2022, 36 (12): 50-53.
- [12] 左琴华, 薛巍. 细胞培养实验平台的管理经验探索[J]. 实验技术与管理, 2020, 37(2):233-236, 263. DOI: 10.16791/j.cnki.sjg.2020.02.056.
- ZUO Q H, XUE W. Exploration on management experience of experimental platform for cell culture[J]. Exp Technol Manag, 2020, 37(2):233-236, 263. DOI: 10.16791/j.cnki.sjg.2020.02.056.
- [13] 陈国元, 康康, 李晓娴, 等. 实验材料检测在 SPF 级实验小鼠质量控制中的应用[J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(1): 61-65. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2020.092.
- CHEN G Y, KANG K, LI X X, et al. Application of experimental material inspection in quality control of SPF mice[J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(1): 61-65. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2020.092.
- [14] 谢忠忱, 江轶, 黄开胜, 等. 高校实验动物生物安全管理模式研究[J]. 实验技术与管理, 2020, 37(2): 1-5. DOI: 10.16791/j.cnki.sjg.2020.02.001.
- XIE Z C, JIANG Y, HUANG K S, et al. Research on laboratory animal biosafety management model in colleges and universities[J]. Exp Technol Manag, 2020, 37(2): 1-5. DOI: 10.16791/j.cnki.sjg.2020.02.001.
- [15] 胡燕玲, 高习文. 细胞培养时存在的生物安全问题简析[J]. 现代畜牧科技, 2018(7): 18. DOI: 10.19369/j.cnki.2095-9737.2018.07.010.
- HU Y L, GAO X W. Brief analysis of biosafety problems in cell culture[J]. Mod Anim Husb Sci Technol, 2018(7):18. DOI: 10.19369/j.cnki.2095-9737.2018.07.010.

(收稿日期:2023-07-12 修回日期:2023-10-18)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,王艳)

[引用本文]

- 彭丽娜, 张曼, 艾敏, 等. 上海交通大学实验动物中心公共细胞培养平台管理经验探讨[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(2): 227-233. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.101.
- PENG L N, ZHANG M, AI M, et al. Discussion on management experience of public cell culture platform in Laboratory Animal Center of Shanghai Jiao Tong University[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(2): 227-233. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.101.



孙 强, 研究员, 博士生导师。中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心(神经科学研究所)非人灵长类研究平台主任。国家杰出青年基金获得者, 科技部中青年科技创新领军人才, 荣获2018年谈家桢生命科学创新奖、2019年国务院政府特殊津贴、2020年药明康德生命化学研究奖-学者奖、2022年度上海市自然科学奖一等奖。中国实验动物学会理事, 中国实验动物学会灵长类实验动物专业委员会常务理事, 上海市实验动物学会理事, 上海市实验动物学会生物安全专业委员会委员。长期致力于实验动物管理和模式动物构建及相关技术的研发工作, 为了向公众普及实验动物相关知识, 坚持实验动物科普写作多年, 为“实验动物那些事儿”公众号主要作者之一, 发表科普文章70余篇。

如果动物实验不严谨

孙 强

(中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心, 上海 200031)

[中图分类号] R-332; Q95-33 [文献标志码] B [文章编号] 1674-5817(2024)02-0234-04



本栏目的第一篇文章中, 通过几个较早的动物实验案例, 以“为什么要开展动物实验”为题, 向读者朋友们介绍了动物实验对人类和动物健康的贡献^[1]。如今, 虽然通过使用动物开展实验来评价候选药物的疗效、代谢及潜在毒性是新药研发不可或缺的环节, 但科学界也会有不同的声音出现。尤其是基于动物实验结果的候选药物临床转化率仅有11%时^[2], 有一些人认为动物实验完全没有必要。事实果真如此吗? 如果药物进入临床前没有通过动物实验对候选药物进行安全性评价, 不知将会有多少患者受到伤害。在新药研发过程中, 不仅要开展动物实验, 而且要进行科学严谨的动物实验。如果动物实验设计和实施过程不严谨, 同样会出问题。例如因出现严重不良反应而被召回的“新药”反应停和万络, 之所以在上市前没有发现其毒性和不良反应, 不严谨的动物实验结果难辞其咎。下面就以几个经典案例来介绍不严谨的动物实验所带来的危害。

1 反应停事件

约60年前, 一款缓解孕妇晨吐的镇静药沙利度胺(Thalidomide, 商品名为反应停)在上市5年后, 因被发现可导致婴儿海豹胎(四肢短得就像海豹的鳍足)和其他畸形而被叫停使用。反应停是20世纪50年代由联邦德国格兰泰公司投入开发的一种镇静类药物, 其声称该药能够显著抑制孕妇晨吐等妊娠反应。1957年10月, 反应停正式投放欧洲市场, 不久后进入日本市场, 并在此后不到一年的时间内风靡欧洲、日本、非洲、澳大利亚和拉丁美洲。但在美国申请上市许可时, 遇到了美国食品药品监督管理局(Food and Drug

Administration, FDA)仔细且繁琐的市场准入调查, 最终没能得到进入美国市场的许可, 并促成“美国国会于1962年通过法案, 加强对药物的管理, 授予FDA更多的权力, 要求新药在获准上市前必须经过严格的试验, 并提供药物不良反应和中长期毒性的数据, 必须对至少两种妊娠动物进行致畸性试验”^[3]。

到1961年, 澳大利亚产科医生威廉·麦克布里德(William McBride)向英国《柳叶刀》(*The Lancet*)杂志投稿, 以“Letter to Editor”的形式报道了反应停能导致婴儿畸形的现象^[4]。在麦克布里德接生的产妇中, 许多人产下的婴儿患有罕见的海豹胎畸形症状, 而这些产妇都曾经服用过反应停。随后, 格兰泰公司撤回联邦德国市场上所有反应停, 不久其他国家也相继停售, 但此时已经有万余名因服用反应停而导致畸形的胎儿出生。由于这一事件, 格兰泰公司支付了1.1亿西德马克的赔偿, 并破产倒闭。

回顾发现, 在反应停上市前, 格兰泰公司使用大鼠开展了动物实验研究, 但并没有发现畸形大鼠出生。后续调查证明, 他们的动物实验设计非常不严谨。首先, 沙利度胺在大鼠体内的半衰期约为0.5 h, 而在人体内的半衰期则有7.3 h之久。因此, 沙利度胺在大鼠体内会很快被代谢掉。其次, 抗氧化剂如谷胱甘肽可以抑制沙利度胺引起的细胞凋亡, 而大鼠比人类具有更多的抗氧化剂, 这些抗氧化剂可保护它们的胚胎免受沙利度胺引起的破坏^[5]。因此, 可以说大鼠并不是一种可以充分评估沙利度胺毒性的实验动物, 相较而言, 使用非人灵长类动物则很容易观察到沙利度胺对胚胎发育的影响。

另外一个容易被忽略的因素是, 大鼠为多胎生产

实验动物，其分娩又多发生在夜间，且母鼠有吃掉发育畸形仔鼠的习惯。因此，当实验人员白天检查大鼠生产情况时往往只能观察到健康的出生个体。虽然窝平均产仔数可能有少许减少，但通常也不会引起注意。后续通过剖宫产和夜间观察大鼠产仔，确实发现在妊娠特定阶段给予沙利度胺，大鼠也可以产下畸形的胎儿。也就是说，如果当时格兰泰公司在开展动物实验时能够考虑到这个细节，改为剖宫产或想办法直接观察大鼠产仔时的情况，或许就可以观察到反应停的不良后果，从而避免悲剧的发生。而且格兰泰公司于1956年发表的沙利度胺动物实验相关文章中显示其动物实验既没有设置安慰剂组，也没有交代给药持续时间，更没有进行双盲对照实验设计^[6]。如此不严谨的实验设计，其团队注意不到动物实验的细节问题也就一点都不意外了。综上，正是由于沙利度胺在上市前的动物安全性评价实验存在严重缺陷，人们没能及时发现其不良反应，最终导致了反应停悲剧的发生。

2 万络事件

如果说反应停事件还只是新药研发和审批不健全时代的产物，那么万络的匆忙上市和退市则是在利益驱动下，当代药物研发中由于动物实验不严谨而造成严重后果的经典案例。

身体在经历发烧、疼痛或炎症反应时，往往会通过抑制或阻断身体内不同部位的前列腺素分泌来缓解症状。例如，退烧药布洛芬和对乙酰氨基酚就是通过抑制下丘脑前列腺素合成来调控体温调节中枢内的体温调定点，促使其恢复正常而实现退烧的；阿司匹林则通过抑制外周前列腺素合成来实现其镇痛、退热和抗炎的功效。上述这些具有抑制或阻断身体不同部位前列腺素分泌或功能的药物隶属于非选择性环氧合酶（cyclooxygenase, COX）（又称前列腺素内氧化酶还原酶）抑制剂。它们都是通过非特异性地抑制或阻断COX活性，实现其抑制前列腺素合成的功能，进而发挥药效。

COX是催化花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶，有两种同工酶：COX-1和COX-2。COX-1除了下丘脑外，还在血管、胃、肾等多种组织中表达，参与血管舒缩、血小板聚集、胃黏膜血流、胃黏液分泌及肾功能等的调节，具有保护胃肠黏膜、调节血小板聚集、调节外周血管阻力和调节肾血流量分布的功能。因此，这些非选择性COX抑制剂类药物在发挥其药效的同时，也会抑制广泛表达在身体其他部位的COX-1，从

而产生不良反应。最典型的不良反应就是引起胃部不适，甚至出现胃溃疡和胃出血等。COX-2则是诱导表达型，只有在身体经历了诸如化学和机械损伤或微生物感染后才会激活。因此，如果能开发出一种药物可以选择性地阻断COX-2的功能，就有望避开上述非选择性COX抑制剂类药物的不良反应。

20世纪90年代，制药界的巨头之一德国默克公司启动了寻找COX-2特异性抑制剂的研究。他们很快推出了一款新药罗非昔布，商品名为万络。并通过8000多名患者的临床试验证明，与当时广泛使用的同类药物萘普生相比，该药在治疗类风湿性关节炎时具有更少的胃肠道不良反应，差不多将胃肠道事件的风险降低了一半。但由于过于关注胃肠道不良反应，默克公司在研发万络的过程中，有意或无意地忽略了该药对心血管系统的严重不良反应，且在不断出现心血管不良反应报告的情况下仍没有重视。直到默克公司继续研究万络在预防腺瘤性息肉等方面的其他适应证时，证实其存在引发心血管的风险，该药才从市场上撤回。但此时仅美国就约有400万人服用了万络。美国FDA的一名调查员估计，万络可能导致约14万人罹患心脏病，其中6万人或将因此死亡^[7]。

排除其他各种涉及公司经济利益等原因外，不严谨的动物实验结果也是万络能够最终通过审查上市的原因之一。早在万络上市之前，宾夕法尼亚大学医学博士加勒特·菲茨杰拉德（Garret FitzGerald）领导的研究小组就观察到万络抑制了前列环素生成。鉴于前列环素对心脏具有潜在的保护作用，加勒特推测该药可能有导致心脏病和中风的风险。但这并没有引起默克公司的足够重视，他们也没有就此开展更为严谨的动物实验来分析万络在心血管方面的风险。而在该药退市后，更进一步的研究结果显示，选择性地敲除血管内皮细胞中的COX-2会使小鼠出现血栓和高血压，这些小鼠就像服用万络的人类一样，前列环素也出现了下降^[8]。想象一下，如果默克公司在万络上市前就能够使用COX-2敲除小鼠开展一个并不需要花费太长时间和精力的研究，或许就可以挽救成千上万人的生命。

3 渐冻人症药物研发

因中枢神经系统内控制骨骼肌运动的神经元退化导致的肌萎缩性脊髓侧索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, ALS，也称渐冻人症）是一种渐进且致命的神经退行性疾病。由于运动神经元退化和死亡，肌肉逐渐萎缩致大脑完全丧失控制随意运动的能力，最终

会造成发音、吞咽、呼吸和运动障碍。著名物理学家斯蒂芬·霍金 (Stephen Hawking) 就是一名 ALS 患者。目前还没有真正可有效治疗 ALS 的药物和方法。

绝大多数 (90%~95%) 的 ALS 发病原因不明,但也有约 5%~10% 的 ALS 患者表现出了家族遗传性。其中,超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, *SOD1*) 基因突变约占这些遗传性 ALS 病例的 10%。*SOD1* 也是第一个被鉴定出来的 ALS 风险基因^[9]。因此很快就有科学家构建了一种含有第 93 位甘氨酸突变为丙氨酸 (G93A) 的人 *SOD1* 基因的转基因小鼠模型,全名为 B6SJL-Tg (*SOD1**G93A) 1Gur/J 转基因小鼠^[10]。该转基因小鼠的基因组中被转入了 23 个拷贝的人源 *SOD1**G93A 突变基因,接下来我们将其简称为 *SOD1**G93A 转基因小鼠。

自 1996 年 *SOD1**G93A 转基因小鼠问世以来,其就被广泛应用于 ALS 药物研发的临床前动物实验中。到 2004 年,短短 8 年时间内,已至少有 50 篇文章描述了从小分子到病毒载体的各类 ALS 治疗方案可延长 *SOD1**G93A 转基因小鼠的寿命,其中最多可以延长 100 d (约占原寿命的 78%)。因此,这些药物很快进入临床试验。然而,迄今为止,除了利鲁唑最多可延长 ALS 患者两个月寿命之外,没有任何一种药物显示出对人类 ALS 疾病的进程有显著影响^[11]。这给医药公司带来了巨大损失。例如,2008 年在《美国国家科学院院刊》(*PNAS*) 上发表的一篇文章显示,锂可以将 *SOD1**G93A 转基因小鼠的存活时间延长 30 d^[12];由于锂早已经被用于治疗精神分裂症,许多 ALS 患者开始超说明书服用该药物,希望减缓 ALS 的疾病进程;然而,招募了数百名患者,花费了远超 1 亿美元的 3 个同时启动的独立 III 期临床试验结果却显示,锂对 ALS 无任何治疗效果。

其实不仅仅是 ALS 的药物研发,在整个医药研发领域,动物实验结果的临床转化率也是非常低的,平均在 11% 左右^[11,13]。那么到底是什么原因导致了如此多的动物实验结果无法实现在人类的临床转化呢?

1999 年,美国麻省理工学院的机械工程师詹姆斯·海伍德 (James Heywood) 在得知他的兄弟斯蒂芬·海伍德 (Stephen Heywood) 被确诊患有 ALS,并无任何有效治疗方法后,与家人一起创立了一家非营利性生物技术公司,即 ALS 治疗开发研究所 (ALS-TDI)。ALS-TDI 成立后,开展了一项旨在寻找 *SOD1**G93A 转基因小鼠实验结果临床转化失败原因的项目,即使用 *SOD1**G93A 转基因小鼠重复已发表科研

论文中的动物实验,以找出其临床转化失败的原因。

在 ALS-TDI 开展的重复性实验中,他们不仅严格执行盲法对照,而且对给药组和对照组的动物进行了更为精细地分配和动物筛查以排除系统误差。他们的分组及实验要求包括:(1) 年龄匹配;(2) 性别匹配;(3) 同窝匹配,即使用同一天出生的同一非转基因母亲和转基因父亲的后代进行分组,具体来说,治疗组中的每个雄性 (和雌性) 动物在对照组中都有一个同窝兄弟 (和姐妹);(4) 样本量设定,每组使用动物数量为 24 只 (12 雌, 12 雄);(5) 死因筛查,检查记录每一只动物的死亡原因,排除非 ALS 致死个体;(6) 转基因拷贝数监控,有研究证明 *SOD1**G93A 转基因小鼠在传代过程中会出现转基因拷贝数丢失的现象,且低拷贝的转基因小鼠的平均寿命会延长。

在这一严格的实验分组和动物筛查条件下,ALS-TDI 的科研人员总共使用了 5 429 只 *SOD1**G93A 转基因小鼠测试了包括利鲁唑在内的 100 多种候选化合物 (大部分已有论文发表并证明可延长 *SOD1**G93A 转基因小鼠寿命),结果却发现没有一种化合物能表现出可延长 *SOD1**G93A 转基因小鼠寿命的效果^[11]。

为了找出那些已经发表的实验结果无法被复现的原因,研究人员以在 ALS-TDI 开展实验中所使用的 2 000 多只对照小鼠作为研究对象,进行了计算机分组模拟实验。由于这些小鼠从出生到死亡的信息以及死亡原因在 ALS-TDI 都有详细的记录,因此他们能够以所有对照小鼠为数据库,分析前述重复实验中设定的不同分组和动物筛查条件对实验结果的影响。即通过计算机对这些没有经过任何药物处理的小鼠根据前述重复实验中设定的不同分组和动物筛查条件进行随机分组,将一组设为假定的实验组,而另一组设为假定的对照组,然后依据已有的小鼠死亡时间记录,统计两组小鼠之间死亡时间是否存在显著差异。经过多次重复,计算出现 5% 以上显著差异 (统计学上通常设置的显著置信区间,即 $P < 0.05$) 的百分比。由于这些小鼠没有接受过任何化合物处理,因此如果假定的实验组和对照组小鼠死亡时间出现了显著性差异,那么其原因应该是分组时的系统误差。

结果显示,在样本量大小为 4 的计算机分组模拟对比实验中,随机分组和不进行死因筛查 (排除和不排除低转基因拷贝数个体) 条件下,两组间出现显著差异的可能性超过了 50%。而在随机分组的同时进行死因筛查并排除低转基因拷贝数个体和进行性别同窝匹配的条件下,样本量为 4 的模拟分组实验中也有

30%的可能出现两组死亡时间有显著差异的情况。随着样本量的增加,出现显著性差异的可能性逐渐减少,但要实现低于5% (即 $P > 0.05$)的非显著性差异,样本量要达到每组24只动物。如果不做分组条件控制,即使样本量达到50只也难以排除系统误差^[11]。

4 启示

反应停事件和万络事件告诉我们:药物研发期间的动物实验不仅不可或缺,而且还需要选择最合适的实验动物(如反应停应使用非人灵长类动物,万络应补充使用基因敲除小鼠);同时应对任何潜在的风险因素都给予重视,并通过严谨和充分的动物实验加以检测和验证。

如果说这两个案例主要反映了制药公司在药物研发过程中,临床前动物实验不严谨会给患者带来严重危害,那么渐冻人症药物研发案例则提示科学研究中动物实验不严谨所带来的更多危害。

ALS-TDI的计算机模拟实验结果说明,前述那些已经发表的基于SOD1*G93A转基因小鼠的实验结果无法实现临床转化的真正原因极大可能是源于其实验设计的不合理,即这些实验因为没有排除分组时的系统误差而导致了假阳性结果。这个研究也暴露了当下使用实验动物开展研究的诸多问题,诸如:盲目地追求减少使用动物的数量;对所用动物的遗传、微生物和繁殖等特性不了解;实验过程中对动物关注不够,不清楚动物发病或死亡的真正原因等。这些问题不仅需要引起实验动物从业人员的注意,而且需要科研人员同样给予关注。因为实验设计不严谨导致的假阳性结果不仅是人力、物力和财力的巨大浪费,也严重有违动物实验伦理福利原则,这样的实验不会带来科学进步,反而浪费了大量实验动物的生命。比如在ALS-TDI开展的重复性实验中,那些无法重复出阳性结果但已经发表的研究工作累计使用小鼠的数量已超过了18 000只。

此外,在动物实验伦理申请时常用替代、减少和优化原则(俗称3R原则)来指导伦理审查工作,有时为了满足3R原则中的“减少”原则,加上开展实验的成本考虑,往往选择使用最少的动物数量(比如多为每组6只)。但从ALS-TDI的计算机分组模拟对比研究看,样本量过小会导致系统误差加大,因此极可能出现假阳性结果。这个时候大家或许忘了3R原则使用的大前提是要能够实现拟开展实验的科学目标,如果单纯为了“减少”而使用更少的实验动物导致科学目标

无法实现,那就不是真正的减少,而是对动物生命的漠视(实际的浪费)。

综上,3个案例告诉我们,无论是科学研究,还是候选药物临床前的安全性评价,都需要开展严谨的动物实验,否则不仅会令所得科研成果无效而浪费动物的生命,也会造成巨大的经济损失,并给患者带来严重的健康风险。

(2024年3月4日星期一,于强业路500号)

【参考文献 References】

- [1] 孙强. 为什么要开展动物实验[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(1): 121-126. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.177.
- [2] HAY M, THOMAS D W, CRAIGHEAD J L, et al. Clinical development success rates for investigational drugs[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(1):40-51. DOI: 10.1038/nbt.2786.
- [3] 方舟子. "反应停"悲喜剧[EB/OL]. (2005-04-06)[2024-03-03]. http://zqb.cyol.com/content/2005-04/06/content_1063523.htm.
- [4] YANG T J, YANG T S, LIANG H M. Thalidomide and congenital abnormalities[J]. Lancet, 1963, 1(7280):552-553. DOI: 10.1016/s0140-6736(63)91347-3.
- [5] VARGESSON N. Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2015, 105(2):140-156. DOI: 10.1002/bdrc.21096.
- [6] BOTTING JH. Animals and medicine: The contribution of animal experiments to the control of disease[EB/OL]. [2024-03-03]. <https://books.openbookpublishers.com/10.11647/obp.0055.pdf>.
- [7] KRUMHOLZ H M, ROSS J S, PRESLER A H, et al. What have we learnt from Vioxx? [J]. BMJ, 2007, 334(7585):120-123. DOI: 10.1136/bmj.39024.487720.68.
- [8] YU Z, CRICHTON I, TANG S Y, et al. Disruption of the 5-lipoxygenase pathway attenuates atherogenesis consequent to COX-2 deletion in mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(17):6727-6732. DOI: 10.1073/pnas.1115313109.
- [9] ROSEN D. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis[J]. Nature, 1993, 364(6435):362. DOI: 10.1038/362059a0.
- [10] TU P H, RAJU P, ROBINSON K A, et al. Transgenic mice carrying a human mutant superoxide dismutase transgene develop neuronal cytoskeletal pathology resembling human amyotrophic lateral sclerosis lesions[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(7):3155-3160. DOI: 10.1073/pnas.93.7.3155.
- [11] SCOTT S, KRANZ J E, COLE J, et al. Design, power, and interpretation of studies in the standard murine model of ALS [J]. Amyotroph Lateral Scler, 2008, 9(1): 4-15. DOI: 10.1080/17482960701856300.
- [12] FORNAI F, LONGONE P, CAFARO L, et al. Lithium delays progression of amyotrophic lateral sclerosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(6):2052-2057. DOI: 10.1073/pnas.0708022105.
- [13] KOLA I, LANDIS J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3(8): 711-715. DOI: 10.1038/nrd1470.

(收稿日期:2024-03-07 修回日期:2024-03-24)

(本文编辑:张俊彦,富群华)

【引用本文】

孙强. 如果动物实验不严谨[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(2): 234-237. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.039.