



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。系国家杰出青年科学基金获得者、科技部中青年科技创新领军人才，并且荣获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。同时是中国实验动物学会理事、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、生物安全专业委员会委员。获得中国首批“试管食蟹猴”，利用慢病毒转染和基因编辑技术先后构建了多种实验猴疾病动物模型，建立了基于精巢异种移植和激素注射的实验猴成熟加速技术，并在国际上首次得到体细胞克隆猴和胚胎干细胞高比例嵌合的食蟹猴。此外，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，是“实验动物那些事儿”公众号主要作者之一，发表科普文章90余篇。

非动物实验替代知多少

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] Q95-33 [文献标志码] B [文章编号] 1674-5817(2025)04-0508-06

本栏目上期文章《无替代，何谈取消》^[1]已从宏观层面梳理了动物实验的替代现状。本篇进一步阐述现阶段已获得国际认可的非动物实验替代方法及其适用范围。

1 非动物实验替代概述

近年来，美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）相继出台《FDA现代化法案2.0》（The FDA Modernization Act 2.0）及多项旨在推动动物实验替代的激进政策^[2]。例如，新任FDA局长马蒂·马卡里（Marty Makary）提出在单克隆抗体药物研发中，优先采用非动物实验策略，并启动“逐步取消强制性动物试验”路线图^[3]。与此同时，随着计算机模拟、类器官培养、器官芯片、人工智能或机器学习等新兴技术的快速迭代，“去动物化”研发前景备受媒体与普通公众关注^[4]。在这一时期，不少普通公众乃至部分科学界、医药界、实验动物产业界等相关领域的人士对“动物实验即将被全面替代”抱有乐观预期。

事实上，“动物替代”并非新概念。早在1959年，Russell与Burch就提出了著名的“替代、减量、优化（Replacement, Reduction, Refinement, 3R）”原则^[5]。在“3R”原则实行的六十余年间，全球科学界与监管部门持续推动发展不同的替代方法：用啮齿类动物替代灵长类动物进行动物实验^[6]；用无脊椎动物替代脊椎动物进行动物实验，如PrP转基因果蝇（*Drosophila*）

作为评估脊椎动物朊病毒传染性的有效替代模型^[7]；此外，近年来不断涌现和发展的非动物实验方法，如体外细胞培养、三维细胞培养（类器官）、微生理系统以及多种体外系统相结合的综合评估框架，正在逐步替代部分动物实验。特别是在化妆品研究领域，这些新兴技术已显著减少了动物实验的使用量。在这一演进过程中，国际标准化与数据互认机制成为评估替代方法有效性的“金标准”。

在动物替代的国际互认组织中，经济合作与发展组织（Organization for Economic Co-operation and Development, OECD）是目前具有全球影响力的动物替代方法评估、认证，并能实现跨国“自动承认”的唯一发布平台^[8]。OECD是一个由38个成员国组成的政府间国际组织，总部位于法国巴黎，其目标是推动各成员国之间的经济发展、政策协调与合作。在化学品安全和动物实验替代方法的国际互认方面，OECD扮演着关键角色，其制定的测试指南（test guidelines, TGs）凭借严谨的流程、持续更新的技术标准，在全球范围内被广泛采用，TGs已成为国际公认的权威技术规范^[9]。

自1981年起，OECD就制定了化学品良好实验室规范（Good Laboratory Practice）和系列TGs，覆盖毒理学、生态学、物理化学等多个领域。这些指南成为全球公认的标准，被广泛应用于新药、农药、化学品等的安全性评估中。此外，OECD还建立了“数据互

认制度”，即一国按照 OECD TGs 进行的实验，其结果在所有 OECD 成员国及部分非成员国（如中国、印度、巴西等）中自动获得承认，无须重复实验。这一制度大幅减少了跨国申报药品和化学品注册时的实验成本与伦理争议。

那么，能够被这样一个发挥着行业引领与协调作用的组织——OECD 认可的关于人类健康领域的动物实验替代方法有多少呢？据笔者统计，截至 2024 年底，OECD 在发布的化学品 TGs 中，共采纳了 32 项非动物实验的替代方法用于人类健康风险评估^[10]。这些替代方法主要分布在：皮肤腐蚀与刺激（4 个）、眼部腐蚀与刺激（9 个）、皮肤致敏（4 个）、光毒性（3 个）、遗传毒性/致突变（5 个）、内分泌干扰（5 个）、免疫毒性（1 个）及皮肤吸收（1 个）等领域（详见表 1）。值得注意的是，OECD 每年仍在持续新增或修订 TGs。例如，2025 年，OECD 又更新了皮肤致敏“定义性方法”（TG 497）^[11]，本栏目下期文章将会对新增的 TG 497 作详细介绍。

2 非动物实验替代方法的原理、应用及其局限性

下面笔者就以皮肤腐蚀与刺激的替代方法为例，来探讨现行替代方法的原理、应用及其局限性。

皮肤腐蚀与刺激的替代方法主要包括 OECD 单条测试指南（test guideline, TG）430、431、435 和 439 共 4 种^[12]。其中，TG 430 通过测定大鼠皮肤圆片电阻下降幅度来评估角质层屏障受损程度，快速识别腐蚀性物质；TG 431 和 TG 439 采用重建人体皮肤三维模型，分别用于评估化学物质的皮肤腐蚀性、刺激性，其原理是通过检测细胞活力来判断皮肤损伤程度^[13]；TG 435 则使用人工合成膜（如 Corrositex[®]）模拟角质层，以 pH 指示剂变色速率判定腐蚀等级。以上这些体外方法适用于工业化学品、化妆品原料及药物成分的初筛，可在早期阶段剔除强刺激或强腐蚀物，显著提高研发效率。虽然能够在一定程度上评估某些化学物质的安全性，但是这些方法仍存在明显的局限性，如它们仍难应对配方复杂的混合物、缺乏皮肤吸收/代谢信息，对“边界”腐蚀物的判定也可能出现假阴性或假阳性，需要结合历史数据与专家判断再次进行判定。

类似地，其他领域的替代方法也存在自身的局限性。遗传毒性替代方法如体外微核（*in vitro*

micronucleus, MNvit）试验是一种被广泛应用的遗传毒性检测方法，用于评估化学物质诱导染色体断裂或纺锤体装置损伤所致的基因毒性。其原理是：当细胞在有丝分裂过程中受到致突变物影响，可能产生染色体断裂（形成无着丝粒的片段）或整条染色体的错误分离，这些残留的染色体片段或整条染色体不能进入子细胞主核，从而形成一个或多个“微核”，在细胞分裂后可在胞质中观察到。该方法通常使用人类淋巴细胞或哺乳动物细胞系，先将其暴露于待测化学物质中，然后加入细胞分裂阻滞剂（如 Cytochalasin B）以阻断细胞胞质分裂，促进其形成双核细胞。通过染色处理和显微镜观察，统计具有微核的双核细胞比例，即可评估测试物的遗传毒性潜力。该试验具有良好的灵敏性和可重复性，已被 OECD 列入 TG 487 中，广泛用于药物、农药、食品添加剂和工业化学品的遗传毒性初筛。

再如彗星试验，又称单细胞凝胶电泳试验，是一种灵敏、快速、用于检测单个细胞 DNA 损伤的体外遗传毒性检测方法。其原理是在低熔点琼脂糖胶中包埋处理过的细胞，经裂解去除细胞膜和蛋白后，DNA 在碱性条件下被解链和去蛋白质化，使受损 DNA 呈松散游离状态。随后进行电泳，完整的 DNA 因结构完整留在原位（形成“头部”），而断裂的 DNA 片段则在电场作用下向阳极迁移，形成“尾部”，整体形态类似彗星。通过荧光染料 [如溴化乙锭（ethidium bromide, EB）或 SYBR 绿染料（SYBR Green）] 染色后在荧光显微镜下观察，并对尾长、尾部 DNA 含量等参数进行图像分析，即可定量评估 DNA 的损伤程度。彗星试验可用于检测 DNA 单链断裂、碱性不稳定位点和碱基修复活性，适用于体外细胞系或原代细胞，也可用于体内细胞如血液、肝脏或其他器官组织。该方法被广泛应用于药物开发、环境毒理、生物安全评估等领域，并被纳入 OECD TG 489。

还有人类 ether-à-go-go 相关基因（human ether-à-go-go-related gene, *hERG*）通道诱导型萤光素酶基因试验，采用工程化的 *hERG* 驱动萤光素酶基因（luciferase gene, *Luc*）表达的细胞系，用于遗传毒性筛选。当细胞暴露于具有遗传毒性（如引发 DNA 损伤）的化学物质后，相关细胞内信号通路被激活，从而增强 *hERG* 上游启动子的转录活性，导致萤光素酶表达水平升高^[14]。通过荧光强度的定量测定，可评估测试物是否具有遗传毒性潜力。

表1 经济合作与发展组织认可的非动物实验替代方法汇总

非动物实验替代方法 (数量/个)	OECD 测试 指南编号	具体说明
皮肤腐蚀与刺激 替代方法(4个)	第430号	利用大鼠皮肤圆片测定经皮电阻降低,判断测试化学品对角质层屏障的破坏程度,用来识别导致不可逆皮肤组织损伤(腐蚀性)的物质
	第431号	使用体外重建的人表皮3D模型(由人体角质形成细胞构建的多层皮肤组织),通过细胞活力下降判断腐蚀性,进而用来区分腐蚀性和非腐蚀性化学物质,并可指示腐蚀强度等级
	第435号	使用人工合成膜(如Corrositex [®] 试剂)模拟皮肤,对试剂施加化学品后,观察膜的化学指示物变化,以检测腐蚀性,用来鉴别腐蚀性物质(不可逆皮肤损伤)
	第439号	利用重建的人表皮模型评估化学品引起的细胞活力降低程度。该模型由人源表皮角质细胞构建,具有类似人体表皮的结构和生理功能,可以用来鉴定导致可逆性皮肤损伤(刺激)的物质
眼部腐蚀与刺激 替代方法(9个)	第437号	牛角膜不透明和渗透性试验:利用屠宰副产品获得的新鲜牛眼角膜,暴露于测试化学品后,测量角膜的不透明度增加程度和荧光素透过量。通过角膜浊度和渗透性的变化来判断眼部腐蚀或严重刺激作用,可用于鉴定导致严重眼损伤(GHS 1类)或无须分类(Non-Classified)的物质
	第438号	离体鸡眼试验:利用屠宰所得鸡眼角膜,将试剂直接作用于鸡眼角膜并观察角膜肿胀、浑浊和荧光染色保留情况。用于识别引起严重眼损伤的化学品和无需归类为眼刺激或严重眼损伤的化学品,评估鸡眼的眼刺激性或腐蚀性
	第460号	荧光素泄漏测试方法:将试剂加入培养的Madin-Darby犬肾细胞(Madin-Darby canine kidney, MDCK)的单层中短暂作用,然后测定荧光染料透过细胞层的程度。细胞层通透性的升高反映细胞损伤程度,用于识别眼腐蚀剂和强刺激物(评估眼腐蚀性或严重刺激性)
	第491号	短时暴露眼刺激体外法:使用兔角膜来源的Statens Seruminstitut rabbit cornea(SIRC)细胞单层,接触待测物5 min,之后通过3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑盐(MTT)法测定细胞活力。用于识别引起严重眼损伤的化学品和无须归类为眼刺激或严重眼损伤的化学品,使用兔角膜细胞评估眼腐蚀性或严重刺激性
	第492号	重建人角膜样上皮模型法:利用人源细胞重建的角膜类似上皮组织(如EpiOcular [™] 等商业模型),将测试物质作用于组织表面,一定时间后通过MTT或水溶性四氮唑盐(water-soluble tetrazolium salts, WST)法测定细胞活力。用于识别无须分类和标注为眼刺激或严重眼损伤的化学品
	第492B号	重建人角膜样上皮法(皮肤模型SkinEthic版):与TG 492类似,采用重建人角膜上皮组织,但通过调整暴露时间(液体为2个时长,固体为3个时长)来提高对不同刺激强度的检测。通过多时间点的细胞活力测定,可区分无刺激、刺激和腐蚀各等级。可全面识别导致严重眼损伤(Cat.1)、引起眼刺激(Cat.2)以及无须分类(No Cat)的物质,实现对眼刺激危险性的完整分类
	第494号	VitreGel眼刺激性测试方法:利用胶原凝胶膜培养的人角膜上皮细胞(human cell emulsion, hCE)模型,测试物接触细胞后,通过测定跨上皮电阻随时间的变化来评估角膜屏障受损程度。以屏障功能下降与否来反映物质的刺激性。用于识别无须分类为眼刺激或严重眼损伤的化学品
	第496号	体外大分子基质法眼损伤试验:使用由脂质、蛋白质、多糖等组成的人工生物高分子基质模型(Ocular Iritecton [®] 等),模拟角膜组织。将待测化学品加入基质中,在模拟泪液环境和光照条件下,通过测量基质浑浊度的增加程度来预测眼刺激性反应程度。用于识别引起严重眼损伤的化学品及无须分类为眼刺激或严重眼损伤的化学品,推荐作为测试策略的初始步骤(详见OECD指南文件第263号),用于识别引起严重眼损伤的化学品
	第467号	严重眼损伤和眼刺激的限定性方法(综合判定方法):通过集成多个信息源,如体外实验数据、理化性质、计算机预测模型和规则判读程序,判定化学品是否属于联合国全球统一分类和标签制度中眼部毒性分类,即严重眼损伤(类别1)、眼刺激(类别2)及无须分类(2022年发布,是继2021年TG 497后又一个可以完全实现动物替代的联合方法)
	皮肤吸收替代方法 (1个)	第428号
皮肤致敏性替代 方法(4个)	第442C号	蛋白质共价结合的体外化学方法:针对皮肤致敏不良效应路径(adverse outcome pathway, AOP)的蛋白质结合关键事件,测定化学品与合成多肽的反应程度,预测致敏可能性
	第442D号	抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)-核因子-红细胞2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)荧光素酶报告基因法:针对AOP中角质形成细胞激活关键事件。包括KeratinoSens [™] 和LuSens两种ARE-Nrf2通路报告基因试验,以及新增的EpiSensA重建皮肤试验。通过检测角质细胞应激反应的基因表达可鉴别致敏物
	第442E号	树突细胞激活试验:针对AOP中树突细胞激活关键事件。包含人源细胞系树突细胞激活试验,如人细胞系活化试验(human cell line activation test, h-CLAT)、U937皮肤致敏试验(U937 skin sensitization test, U-SENS)以及2022年新增的GARD [™] skin基因表达试验。这些体外方法能预测免疫细胞对致敏物的反应

续表

非动物实验替代方法 (数量/个)	OECD 测试 指南编号	具体说明
	第 497 号	皮肤致敏的规定性综合方法:提供固定信息源组合和算法的定义性方法,综合直接肽反应性测定(direct peptide reactivity assay, DPRA)、KeratioSens、h-CLAT 等数据进行致敏性预测。包含“三步中的两步”(2/3)等判定策略,可根据多个非动物试验结果直接判断化学品致敏性,无须专家判断。这是 OECD 首个综合决策指南(2021 年发布),已被国际监管机构认可,是可用于替代动物致敏试验的不确定性决策
光毒性替代方法 (3 个)	第 432 号	体外 3T3 中性红摄取光毒性试验:适用于光毒性(皮肤光敏性)初筛,通过测定小鼠 3T3 细胞在有/无紫外光(ultraviolet, UV)光照下存活率降低程度以评估化合物光毒性
	第 495 号	活性氧光反应试验:适用于光反应性的检测,通过在化学体系中测定试剂在紫外-可见光照射下所产生的活性氧(如单线态氧和超氧阴离子)量,以预测其潜在的光毒性风险
	第 498 号	重建人表皮模型法:适用于光毒性检测,利用 3D 人表皮模型,在有/无 UV 照射条件下评估化学品对皮肤组织活力的影响。该方法模拟皮肤实际情况,可更准确预测体内光毒性反应
遗传毒性(基因毒性) 替代方法(5 个)	第 471 号	细菌回复突变试验:适用于基因突变检测,以多株沙门氏菌和大肠杆菌测定化学品诱变作用。Ames 试验作为国际标准,无须动物且灵敏可靠,长期用于法规要求(如欧盟的 REACH)以替代啮齿动物突变试验
	第 473 号	体外哺乳动物染色体畸变试验:适用于染色体畸变检测,使用经培养的人或啮齿动物细胞来观察化学品诱发的染色体断裂和重组情况。作为标准的非动物实验方法,该试验已被 OECD 纳入法规数据要求(如工业化学品、药物),可完全替代相应的动物骨髓畸变试验
	第 476 号	体外哺乳动物细胞基因突变试验(<i>Hprt/xprt</i> 基因):适用于基因突变检测,在培养的哺乳动物细胞(如 CHO 或鼠淋巴细胞)中测定 <i>Hprt</i> 或 <i>xprt</i> 基因座突变。此试验与 Ames 互补,用于鉴定不同作用机制的致突变物
	第 487 号	体外哺乳动物细胞微核试验:适用于染色体损伤检测,通过观察培养细胞有无微核形成评估化学品引起的染色体断裂或整倍体改变。该方法相当于体内骨髓微核试验的替代,被 ICH 和 REACH 等法规广泛接受,可以完全取代动物微核试验用于初步筛查
	第 490 号	体外哺乳动物细胞 TK 基因突变试验:适用于基因突变检测,利用鼠淋巴瘤细胞的胸苷激酶(thymidine kinase)基因缺失突变作为终点。相比 TG 476,可检测更广泛类型的基因改变(包括大片段缺失)。该方法于 2015 年纳入 OECD 指南,作为提高灵敏度的附加替代试验,被欧盟和美国采用
内分泌干扰相关替代 方法(5 个)	第 455 号	稳定转染转录激活法检测雌激素受体激动剂/拮抗剂:用于内分泌雌激素活性筛查。TG 455 作为性能导向的指南,包括多种稳定转染的人源雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α) 报告基因细胞系(如 VM7Luc4E2 等),可提供定量剂量反应数据,鉴定化学品的雌激素受体(estrogen receptor, ER)激动或拮抗活性。此试验替代啮齿动物子宫增重试验等体内筛查,已被欧美等国家的法规认可,用于识别潜在内分泌干扰物
	第 457 号	BG1Luc 雌激素受体转录激活试验:适用于雌激素受体激动剂/拮抗剂检测,以人卵巢癌 BG1 细胞报告基因系统评估 ER 介导的转录激活。TG 457 是特定方法实例,于 2012 年采用。其功能被 TG 455 涵盖,但 TG 457 作为支持材料保留。已被美国 EPA 等接受,用于筛选环境化学品的雌激素活性
	第 458 号	人源雄激素受体(androgen receptor, AR)转录激活试验:用于雄激素受体激动剂/拮抗剂检测,利用人源 AR 转录激活报告细胞筛查化学品的 AR 活性或抗性。TG 458 收录多种等效方法(如 AR-EcoScreen™、AR-CALUX®),2023 年更新包括所有验证方法。该试验可替代啮齿动物前列腺增生试验(Hershberger 试验)的初筛作用,OECD 的成员国已互认其数据
	第 456 号	H295R 类固醇生成试验:适用于甾体激素合成干扰检测,采用人肾上腺皮质腺瘤细胞系 H295R,测定化学品对雌二醇和睾酮合成分泌的影响。可筛查化学物质对内分泌系统的干扰(如芳香化酶抑制),替代部分动物内分泌试验。TG 456 于 2011 年发布,已被 OECD 及美国 EPA 等用于识别潜在内分泌干扰物
	第 493 号	人重组雌激素受体结合试验性能导向指南:用于雌激素受体配体结合检测,包含多种经验证的人源 ER α 配体结合试验方法(如放射配体结合或荧光偏振法)。TG 493 确保任何符合性能标准的 hrER 结合方法均可用于筛查化学品 ER 结合亲和力。2015 年被 OECD 采用,2024 年更新。 尽管 OECD TG 493 在检测化学品与雌激素受体的结合亲和力方面具有高效性,但其仅提供结合亲和力的信息,不能评估化学品是否具有激动剂或拮抗剂的功能活性。因此,建议将其与其他测试方法(如 OECD TG 455)结合使用,以全面评估化学品的雌激素活性。 此外,OECD TG 493 的适用性可能受到测试化学品溶解性、稳定性和与放射性配体竞争能力的影响,某些化学品可能不适用于该测试方法
免疫毒性替代方法 (1 个)	第 444A 号	体外免疫毒性 IL-2-Luc 试验:适用于免疫毒性初筛,利用人类 T 细胞白血病 Jurkat 衍生细胞系稳定表达萤光素酶报告基因,检测化学品诱导的 IL-2 和 IFN- γ 基因调控。该方法定量测定免疫相关基因的活化抑制,以评估化学品对 T 细胞功能的潜在毒性(2023 年正式通过)

注: OECD, 经济合作与发展组织; GHS, 全球化学品统一分类和标签制度; Ames, 污染物致突变性检测; REACH, 关于化学品注册、评估、授权和限制的法规; ICH, 国际人用药品注册协调会; EPA, 美国环境保护署; *Luc*, 萤光素酶基因; 第 490 号, OECD 原有的酵母遗传毒性试验 TG 479/480/481/482 已废除(2014 年), 不再列入 OECD。

虽然上述方法可以实现部分动物实验的替代,然而仍无法全面涵盖体内代谢活化、全身系统性毒性或多器官相互作用等复杂机制。因此,在某些高风险或监管要求严格的评估场景下,仍需体内验证作为补充。内分泌干扰的替代实验方法的局限性则在于仅能识别激素受体结合或转录激活等早期分子事件,而无法全面预测体内代谢、反馈调节及多信号通路交叉干扰带来的复杂内分泌干扰效应。因此,仍需结合整合性策略或后续体内验证,以提高风险评估的完整性。

此外,现有替代方法多集中应用于毒理通路明确、作用机制相对单一的领域,例如皮肤和眼部的腐蚀、刺激及致敏反应,以及特定位点的遗传毒性检测和内分泌受体介导的毒性效应等。相比之下,在全身毒性、慢性毒性、发育毒性和生殖毒性等对人类健康影响更为深远、机制更为复杂的毒性终点上,目前获得OECD认可的非动物实验方法仍极为有限。唯一的例外是2023年通过认证的免疫毒性替代方法(TG 444A),其原理是通过体外共培养系统,将小鼠来源的脾细胞暴露于测试化合物,从而诱导T细胞激活和B细胞抗体生成。若测试物具有免疫毒性,可能抑制或增强抗体应答,进而可通过测定IgM抗体水平变化评估其免疫调节效应。TG 444A作为体内T细胞依赖性抗体应答试验(T-cell-dependent antibody response, TDAR)的替代方法,能在一定程度上减少动物使用。上述案例表明,这些替代方法虽可用于特定毒性终点的体外筛查,但尚未形成一个系统完备、可全面取代动物实验的毒理学评估体系。

3 总结与思考

尽管皮肤刺激、过敏及腐蚀等领域已开发出一批成功的非动物实验替代方法,并在化妆品、工业化学品等成熟的监管板块发挥重要作用,但其适用范围仍局限于早期风险识别或辅助分类。药物研发所需的系统毒性、慢性暴露、发育生殖毒性等复杂评估,仍难完全依赖现有的非动物实验替代方法完成。此外,大多数非动物实验替代方法仍遵循“一个机制对一个终点”的设计思路,尚不足以复刻整体生理响应与多器官互作的复杂性。

综上,笔者认为“动物实验即将被全面替代”的观点在目前来说尚属于技术乐观主义的误判。虽然我们已在非动物实验替代领域迈出关键步伐,但真正意义上的“无动物实验毒理学”仍需在科学验证、跨物

种数据外推、监管标准衔接以及伦理与社会共识等层面长期耕耘。这一转型绝非一蹴而就,而是由科学、政策、伦理与社会多方协同演化的渐进过程。每一项经验证的替代方法、每一次实验动物使用的减少,都是向“科学进步与伦理理性相统一”目标迈出的坚实一步。

致谢: 本文得到了“中国科学院战略生物资源专项实验动物平台项目”(编号:KFJ-BRP-005)的支持。

【参考文献References】

- [1] 孙强. 无替代,何谈取消[J]. 实验动物与比较医学, 2025, 45(3): 376-378. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.064.
- [2] ADASHI E Y, O'MAHONY D P, GLENN COHEN I. The FDA modernization act 2.0: drug testing in animals is rendered optional[J]. Am J Med, 2023, 136(9): 853-854. DOI: 10.1016/j.amjmed.2023.03.033.
- [3] U.S. FOOD & DRUG. FDA announces plan to phase out animal testing requirement for monoclonal antibodies and other drugs[EB/OL]. (2025-04-10)[2025-07-10]. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-announces-plan-phase-out-animal-testing-requirement-monoclonal-antibodies-and-other-drugs>.
- [4] AKASH S R, ARNOB M A J B, UDDIN M J. FDA Modernization Act 2.0: An insight from nondeveloping country[J]. Drug Dev Res, 2023, 84(8):1572-1577. DOI: 10.1002/ddr.22108.
- [5] AVEY M T, FENWICK N, GRIFFIN G. The use of systematic reviews and reporting guidelines to advance the implementation of the 3Rs[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2015, 54(2):153-162.
- [6] CENCI M A, WHISHAW I Q, SCHALLERT T. Models for human neurological disease: both rats and primates are needed[J]. Nat Rev Neurosci, 2002, 3(7): 580. DOI:10.1038/nrn877-c2.
- [7] THACKRAY A M, ANDRÉOLETTI O, BUJDOSO R. The use of PrP transgenic *Drosophila* to replace and reduce vertebrate hosts in the bioassay of mammalian prion infectivity[J]. F1000Res, 2018, 7:595. DOI: 10.12688/f1000research.14753.1.
- [8] KOJIMA H. History of the Organisation for Economic co-operation and Development (OECD) test guidelines for non-animal test methods in Japan[J]. Genes Environ, 2025, 47(1):3. DOI: 10.1186/s41021-024-00323-7.
- [9] JEONG D H, JUNG D W, LEE H S. Confirmation of the steroid hormone receptor-mediated endocrine disrupting potential of fenvalerate following the Organization for Economic Cooperation and Development test guidelines, and its estrogen receptor α -dependent effects on lipid accumulation [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2024, 283: 109955. DOI: 10.1016/j.cbpc.2024.109955.
- [10] KNETZGER N, ERTYCH N, BURGDORF T, et al. Non-invasive *in vitro* NAM for the detection of reversible and irreversible eye damage after chemical exposure for GHS classification purposes (ImAi) [J]. Arch Toxicol, 2025, 99(3): 1011-1028. DOI:

- 10.1007/s00204-024-03940-x.
- [11] FRANK GERBERICK G. The use of peptide reactivity assays for skin sensitisation hazard identification and risk assessment[J]. *Altern Lab Anim*, 2016, 44(5): 437-442. DOI: 10.1177/026119291604400506.
- [12] KOLESNYK S, BUBALO N, PRODANCHUK M, et al. Differences in classification for skin corrosion/irritation in EU and Ukraine: Case study of alternative (in vitro and in silico) methods application for classification of pesticide active ingredient imazamox[J]. *Toxicol Vitro*, 2019, 60: 71-75. DOI: 10.1016/j.tiv.2019.05.007.
- [13] MORALES M, PÉREZ D, CORREA L, et al. Evaluation of fibrin-based dermal-epidermal organotypic cultures for *in vitro* skin corrosion and irritation testing of chemicals according to OECD TG 431 and 439[J]. *Toxicol Vitro*, 2016, 36: 89-96. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.07.010.
- [14] SUZUKI H, SAKABE T, HIROSE Y, et al. Development and evaluation of yeast-based GFP and luciferase reporter assays for chemical-induced genotoxicity and oxidative damage[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101(2): 659-671. DOI: 10.1007/s00253-016-7911-z.
- (收稿日期:2025-07-15 修回日期:2025-08-05)
(本文编辑:丁宇菁,陈毅)
- [引用本文]**
孙强. 非动物实验替代知多少[J]. *实验动物与比较医学*, 2025, 45(4): 508-513. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.117.

《实验动物与比较医学》有关常用实验动物安乐死方法的说明

选用合适的实验动物安乐死方法是保障动物福利的重要环节。本刊在三审三校过程中常发现实验动物安乐死方法选用不当导致退稿的情况。现根据国家标准 GB/T 39760—2021《实验动物 安乐死指南》和《2020 版美国兽医协会动物安乐死指南解析》[《实验动物与比较医学》2021, 41(3): 195-206], 针对实验动物体内研究论文中常见安乐死方法, 说明如下:

1. 二氧化碳 (CO₂) 不能用于犬、猫、非人灵长类等中大型实验动物安乐死, 用于啮齿类动物 (断乳后) 和兔 (应提前麻醉) 时, 需注意安乐死容器内的 CO₂ 充盈速率达标。
2. 断颈或颈椎脱臼法只能由经过培训且可熟练操作的人员用于清醒状态下小型鸟类、家禽、小鼠、大鼠 (<200 g) 的安乐死, 否则需要麻醉后使用。
3. 巴比妥类药物 (需是药用级) 过量注射常用于实验动物安乐死, 但需通过静脉或麻醉后内心注射的方式给药; 啮齿类和兔等小型动物可采用腹腔注射方式。
4. 水合氯醛、α-氯醛糖、丙酮、四氯化碳、甲醛、土的宁、二甲基酮、季铵盐类化合物以及其他非专用安乐死的有毒物质都不得用于实验动物安乐死。
5. 三溴乙醇、乌拉坦如无法获得药用级产品, 麻醉使用争议较大, 不可单独用于安乐死, 而且危害操作人员健康; 此外, 乙醚、异氟烷、氯仿、氰化物等也因对操作人员存在风险, 均不建议用于实验动物安乐死。
6. 硫酸镁和氯化钾不可用于清醒状态下的脊椎动物安乐死; 神经肌肉阻断剂不可单独用于实验动物安乐死。
7. 放血法不能用于有意识动物的安乐死, 必须先深度麻醉后方可使用。
8. 空气栓塞、机械窒息、烧伤、泄压, 以及强迫水生动物离开水的方法都是不可接受的安乐死方式; 急速冷冻仅可用于胚胎期或刚出生 (5 d 内) 的啮齿类动物, 以及 <4 g 的爬行动物、两栖动物。

以上内容, 敬请广大作者、审者及编者注意识别与防范。

各种安乐死方法的详细适用条件和操作要点, 请查阅相关文献。另外, 动物实验开展前应将麻醉和安乐死方案提交伦理委员会审批通过。

《实验动物与比较医学》编辑部