

实验动物与比较医学



期刊网站

Shiyan Dongwu Yu Bijiao Yixue

双月刊 1981年9月创刊 第41卷 第1期(总第185期)

2021年2月25日出版

主 管

上海科学院

主 办

上海市实验动物学会

上海实验动物研究中心

编 辑

《实验动物与比较医学》编辑委员会

主 编

高 诚

出 版

《实验动物与比较医学》编辑部

地址: 上海市金科路 3577 号

邮编: 201203

电话: 021-50793657

E-mail: bjb50793657@163.com

网址: <http://www.slarc.org.cn/dwyx>

编辑部负责人

富群华

印 刷

上海新开宝商务印刷有限公司

发 行

上海市报刊发行局

范围: 国内公开发行

邮发代号: 4-789

零 售

《实验动物与比较医学》编辑部

201203, 上海市金科路 3577 号

电话: 021-50793657

联系人: 王伟民

定 价

每期 10.00 元, 全年 60.00 元

中国标准连续出版物号

ISSN 1674-5817

CN 31-1954/Q

版权声明

2021 年版权归《实验动物与比较医学》编辑委员会所有, 未经授权, 不得转载、摘编本刊文章。

除非特别说明, 本刊刊出的所有文章

不代表上海市实验动物学会、上海实验动物研究中心和《实验动物与比较医学》编辑委员会的观点。

如有印刷或装订质量问题, 请向本刊编辑部调换。

目 次

创刊 40 周年专家论坛

从人类基因组计划到精准医学——比较医学的发展趋势与挑战

赵国屏1

创刊 40 周年专题: 各地实验动物科学发展

西双版纳会议与湖北省实验动物科技发展 40 年历程

唐利军9

陕西省实验动物工作近 10 年发展历程

师长宏, 刘恩岐, 张 海14

创刊 40 周年专题: 期刊发展

《实验动物与比较医学》创刊 40 年重要文献回顾

高 诚17

论著: 人类疾病动物模型

慢性低氧性肺动脉高压大鼠动脉血气分析指标的变化及其意义

张舒婷, 姚青青, 李宜珊, 施熠炜27

葡聚糖硫酸钠不同给药方式建立小鼠溃疡性结肠炎模型

赵亚妮, 李 瑶, 张 妍, 王四旺, 安军明33

雌性侏儒症大鼠繁殖性能初探

焦淑凡, 徐龙妹, 华征宇, 姚菊芳40

论著: 实验动物与中医药

痰热清注射液的安全药理学动物实验评价

胡 俊, 张小利, 杨 春, 陆锦遥, 王 琼, 谷颖敏, 谢家骏,
张超超, 田雪松46

竹节香附素 A 对肝缺血再灌注大鼠的保护作用机制

李洪波, 黄 锐, 代 将, 钟振东55

实验动物管理

实验材料检测在 SPF 级实验小鼠质量控制中的应用

陈国元, 康 康, 李晓娴, 纪文韬, 张金梅, 冯延花, 田倩莹, 吴宝金61

实验动物健康码管理的架构设计

姜 鲲, 汤逸雯, 刘延滨, 陈历铭, 汤宏斌66

综 述

高脂饲料诱导代谢性疾病动物模型

罗建波, 李军晖, 王海江, 周小玉, 曾 涛, 周 佳, 朱献军70

规范与指南

学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范(三)

国际医学期刊编辑委员会(张俊彦, 于笑天, 汪 源, 译)79

创刊 40 周年主编寄语

期刊成长四十载, 凝心聚力再出发

高 诚英文目次后插页

《实验动物与比较医学》第六届编辑委员会前插 10

《实验动物与比较医学》入选 2020 中国医药卫生“核心期刊”目录8

致谢本刊支持单位45

广告封二, 前插 1~9, 封三, 封底

期刊基本参数: CN 31-1954/Q*1981*b* 大 16*84*zh*P*¥10.00*2000*13*2021-02

本期执行主编 高 诚

本期审稿专家 白 玉 陈民利 高 诚 贺争鸣 孔利佳 李 焱 倪士峰

乔伟伟 施 恩 王 丹 徐 平 燕顺生 杨娜娜 姚 明

张 周 周光兴 周庆辉

本期责任编辑 张俊彦 富群华

责任排版 王伟民

中英文校对 陶启辰 王安娜 朱德才

(排名不分先后)

LABORATORY ANIMAL AND COMPARATIVE MEDICINE

Bimonthly

Established in September, 1981

Volume 41, Issue 1

February 25, 2021

Directed by

Shanghai Academy of Science and
Technology

Sponsored by

Shanghai Laboratory Animal Science
Association
Shanghai Laboratory Animal Research
Center

Edited by

Editorial Board of *Laboratory Animal
and Comparative Medicine*

Editor-in-Chief

GAO Cheng

Published by

Editorial office of *Laboratory Animal
and Comparative Medicine* 3577
Jinke Road, Pudong District,
Shanghai 201203, China
Tel: 0086-21-50793657
E-mail: bj50793657@163.com
<http://www.slarc.org.cn/dwyx>

Managing Editor

FU Qunhua

Printed by

Shanghai Newcabo Business Printing
Co., Ltd.

Distributed by

Shanghai Postal Bureau of Press Issuing
Postal code: 4-789

Price

RMB 10.00 per issue

CSSN

ISSN 1674-5817

CN 31-1954/Q

Copyright© 2021 by the Editorial
Board of *Laboratory Animal
and Comparative Medicine*

No content published by the journal of *Laboratory
Animal and Comparative Medicine* may be
reproduced or abridged without authorization.

All articles published represent the opinions of the
authors, and do not reflect the official policy of
the Editorial Board of *Laboratory Animal and
Comparative Medicine*, unless this is clearly
specified.

Executive Editors for This Issue

ZHANG Junyan, FU Qunhua

CONTENTS IN BRIEF

40th Anniversary Expert Forum

Development Trend and Challenge of Comparative Medicine from Human
Genome Project to Precision Medicine
ZHAO Guoping 1

40th Anniversary: Development of Laboratory Animal Science Across China

History of Xishuangbanna Conference and Development of Hubei Laboratory
Animal Science and Technology in Past 40 Years
TANG Lijun 9

Development of Shaanxi Laboratory Animal Science in Past 10 Years
SHI Changhong, LIU Enqi, ZHANG Hai 14

40th Anniversary: Development of the Journal

Important Literature Review for the 40th Anniversary of *Laboratory Animal
and Comparative Medicine*
GAO Cheng 17

Original Article: Animal Models of Human Diseases

Changes and Significance of Arterial Blood Gas Analysis Indexes in Rats with
Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension
ZHANG Shuting, YAO Qingqing, LI Yishan, SHI Yiwei 27

Establishment of Ulcerative Colitis Model in Mice by Different Drug Delivery
Methods of Dextran Sodium Sulfate
ZHAO Yani, LI Yao, ZHANG Yan, WANG Siwang, AN Junming 33

Preliminary Probing for Reproductive Performance in Female Dwarfism Rats
JIAO Shufan, XU Longmei, HUA Zhengyu, YAO Jufang 40

Original Article: Laboratory Animal and Traditional Chinese Medicine

Safety Pharmacology Evaluation of Tanreqing Injection by Animal Experiment
*HU Jun, ZHANG Xiaoli, YANG Chun, LU Jinyao, WANG Qiong, GU Yingmin,
XIE Jiajun, ZHANG Chaochao, TIAN Xuesong* 46

Mechanism of Protective Effect of Raddeanin A on Hepatic Ischemia-reperfusion
in Rats
LI Hongbo, HUANG Rui, DAI Jiang, ZHONG Zhendong 55

Laboratory Animal Management

Application of Experimental Material Inspection in Quality Control of SPF Mice
*CHEN Guoyuan, KANG Kang, LI Xiaoxian, JI Wentao, ZHANG Jinmei,
FENG Yanhua, TIAN Qianying, WU Baojin* 61

Design of Health Code Management Framework for Laboratory Animals
JIANG Kun, TANG Yiwen, LIU Yanbin, CHEN Liming, TANG Hongbin 66

Review

Metabolic Disease Animal Models induced by High-fat Diets
*LUO Jianbo, LI Junhui, WANG Haijiang, ZHOU Xiaoyu, ZENG Tao,
ZHOU Jia, ZHU Xianjun* 70



高 诚，研究员，科技部第 1 届“国家实验动物专家委员”成员，CNAS 实验室专门委员会实验动物专业委员会副主任委员，上海市自然科学研究系列生物与医药专业学科高级专业技术职务任职资格评审委员会委员，扬州大学、复旦大学实验动物专业研究生导师，《实验动物和比较医学》杂志主编。曾任中国实验动物学会副理事长，上海市实验动物学会理事长，上海市实验动物标准化技术委员会主任委员。长期从事实验动物质量控制研究，主持科技部和上海市多个重大科研项目，主编、参编多部专著和译著，发表论文数十篇，参与创建上海市实验动物质量监督检验站和上海实验动物资源公共服务平台，多次组织举办实验动物福利伦理国际研讨会。

期刊成长四十载，凝心聚力再出发

高 诚

实验动物（包括模式生物）是近现代生命科学研究的重要条件，为比较医学的基础与应用研究提供了不可或缺的载体，对生物医药发展和人类健康起着不可替代的作用。尤其在抗击新型冠状病毒肺炎（corona virus disease 2019, COVID-19）疫情过程中，国家多部委第一时间将以实验动物与比较医学为基础的“动物模型构建”列为五大主攻方向之一，积极组织跨学科、跨领域的系列研究，以及中医药、疫苗研发等产学研协同攻关工作。随着精准医学和大数据时代的到来，今后实验动物科学与比较医学将在我国生物医药科技创新过程中发挥越来越重要的基础支撑作用。

科技期刊是传播学术科研成果的重要载体，也是科技创新的核心媒介。作为我国实验动物领域的第一本学术类科技期刊，《实验动物与比较医学》自 1981 年创刊以来一直与我国实验动物科学的发展与繁荣同行同声，并得到了各界专家及其所在学术团队的鼎力支持与积极引领。2021 年，是本刊创刊 40 周年，也恰逢我国经济社会发展“十四五”规划的开局之年。“十四五”时期，我们将立足于上海科创中心建设背景下的生物医药这一重点领域，更加注重刊-研协作，努力打造精品、专业科技期刊，助力优秀科技成果的产出与推广，共建更高水平的实验动物科学及比较医学交流平台。

未来，《实验动物与比较医学》将从以下几个方面来加强期刊内容建设：（1）通过专题形式组织优秀稿件，不仅包括实验动物资源开发、动物福利与伦理、实验动物管理等经典领域，而且将聚焦实验动物与肿瘤、生殖发育、心脑血管、神经精神、内分泌代谢、运动康复、中西药研发、生物医用材料应用、医疗技术改良、检验检疫及疫苗研制等比较医学领域；（2）通过加强期刊服务能力，吸引优质作者和科研团队，凝聚优秀专家和编委力量，真正落实学术主导、服务科研的办刊宗旨；（3）通过优化编辑团队，运用新理念、新技术，规范稿件处理流程，提高稿件处理效率和编校质量，并加强网络化、数字化建设，促进优秀科研成果传播和交流的效能最大化；（4）注重产学研合作，关注技术创新和产业发展，助力科研成果转化、相关企业技术攻关和信息服务平台建设；（5）加强期刊学风建设，严把科研诚信关，培育学术新人，树立期刊品牌形象。

让我们继续携手，凝心聚力，共同开启下一个 10 年的《实验动物与比较医学》期刊新征程！相信期刊与您都会有更加美好的未来！

2021 年 1 月



赵国屏，分子微生物学家、中国科学院院士。现任中国科学院上海营养与健康研究所生物医学大数据中心首席科学家、中国科学院上海植物生理生态研究所合成生物学重点实验室专家委员会主任、复旦大学生命科学学院微生物学和微生物工程系主任，兼任中国生物工程学会合成生物专业委员会主任、上海生物工程学会名誉理事长。主要研究领域涉及微生物基因组学、系统与合成生物学以及生物信息学等方面。曾参与启动中国基因组学及相关生命“组学”研究，克隆若干遗传病致病基因；主持若干重要微生物的基因组、功能基因组、比较和进化基因组研究，解析 SARS 冠状病毒分子进化机制；而且在细菌蛋白质乙酰化组和肠道微生物组等领域也做出若干开创性工作。组建并领导中国科学院合成生物学重点实验室，在酵母染色体结构、代谢与代谢流量组研究、天然化合物细胞工厂制造、基因编辑技术研发等方向上，实现重要突破。近年来，参与组建并领导中国科学院上海生命科学研究院（现上海营养与健康研究所）生物医学大数据中心，为建设国家生物医学大数据综合性服务平台开展预研工作。

从人类基因组计划到精准医学 —— 比较医学的发展趋势与挑战

赵国屏^{1,2,3}

(1. 复旦大学生命科学学院微生物学与微生物工程系，上海 200438；2. 中国科学院合成生物学重点实验室，上海 200032；3. 中国科学院上海营养与健康研究所生物医学大数据中心，上海 200031)

[摘要] 通过回顾人类基因组计划到精准医学的发展过程，可以更加全面准确地认识比较医学，进而为开展更为精准高效的比较医学研究提供重要的启示。本文从人类基因组计划到精准医学的发展过程谈起，总结分析了比较医学的发展趋势即实验动物人源化和动物模型类人化，并且指出在大数据时代的挑战下，比较医学研究应发挥其“交叉会聚”特性，努力实现研究手段和技术的突破，提升为人类健康研究服务的效率与质量。

[关键词] 人类基因组计划；精准医学；比较医学；发展趋势

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0001-08

Development Trend and Challenge of Comparative Medicine from Human Genome Project to Precision Medicine

ZHAO Guoping^{1,2,3}

(1. Department of Microbiology and Microbial Engineering, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China; 2. Key Laboratory of Synthetic Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; 3. Biomedical Big Data Center, Shanghai Institute of Nutrition and Health, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Correspondence to: ZHAO Guoping, E-mail: gpzhao@sibs.ac.cn

[Abstract] By reviewing the development from human genome project to precision medicine, we can have a more comprehensive and accurate understanding on comparative medicine, thus provide important enlightenment for more precise and efficient comparative medicine research. Starting from the development from human genome project to precision medicine, this paper summarized and analyzed the development trend of comparative medicine, that is, humanization of laboratory animals and personification of animal models. Moreover, the paper pointed out that under the challenge of big data era, comparative medicine

research should play its “cross convergence” characteristics, achieve breakthroughs in research methods and technologies, and improve the efficiency and quality of human health research.

[Key words] Human genome project; Precision medicine; Comparative medicine; Development trend

回顾人类基因组计划到精准医学的发展过程, 对我们全面准确地认识比较医学, 进而更为精准高效地开展比较医学研究有重要的启示。“人类基因组计划”自20世纪80年代末启动以来, 通过对人类基因组越来越精细、越来越全面的序列测定, 以及开展相关的不同层次的生命“组学”研究, 形成了系统生物医学研究体系和转化医学研究平台, 成功地实现了“人类基因组计划”的初心——将人类自身转化成医学研究(试验和实验)主要对象。在此基础上, 基因组学与生命多组学、系统生物学与转化医学的研究理念, 以及同时产生的从基因编辑到细胞编程、哺乳动物体细胞克隆等一系列颠覆性技术创新, 从根本上将以实验动物为研究对象的“比较医学”提升到了一个直面“多尺度、高维度、异质性”复杂体系挑战, 搭建多层次“类人”实验动物(从群体、个体到细胞、分子)体系的全新的高度。

进入21世纪以来, 以基因组为主的生命科学, 尤其是系统生物医学及转化医学研究和实践所带来的数据积累量达到了EB(10^{18})量级, 标志着生物医学研究进入了“大数据”时代。然而, 带来巨大发展机遇的同时, 生物医学研究也面临着技术与管理方面的巨大挑战。在这个方向上, 今后的工作重点应是建设针对系统生物学、比较医学和转化医学等研究型核心数据的国家生物医学大数据治理体系。而比较医学研究也要面对进入“大数据时代”带来的新的机遇和挑战, 全面提升以“交叉会聚研究”、“使能技术创新”、“数据智能转化”和“精准类人服务”为特征的科研水平, 主动承接人类基因组研究所带来的协同生物医学科学技术研究为人类健康服务的重大历史责任。

1 人类基因组计划: 人类成为研究肿瘤的优选实验物种

1986年, 诺贝尔获得者 Renato Dulbecco 在

Science 上发表了一篇两页纸的文章《肿瘤研究的转折点: 人类基因组测序》开启了人类基因组计划的序幕。这篇文章^[1]首先提出“如果想更多地了解肿瘤”这个科学问题, 然后提出“我们从现在起就必须关注细胞的基因组”的研究假说; 紧接着提出了两种可能的研究方法: 一种是对恶性肿瘤重要基因进行逐个解析, 另一种是对某种动物的整个基因组进行测序分析。最后该文指出: 相比而言, 从后者入手更有成效, 而且由于我们想了解的是人类肿瘤, 那就应该从人类开始。由此, Dulbecco 预言“结合培养的细胞和免疫缺陷小鼠, 人类将成为研究肿瘤的优选实验物种。”

当时, Dulbecco 提出人类基因组研究的目标, 一个是对DNA的详细认识可以推动人类肿瘤研究, 另一个是可以对肿瘤之外的人类生理与病理探索发挥关键作用。现在回过头来看, 人类基因组研究的意义已经远远超出了这两个目标。时至今日, 全世界的生物医学研究与实践几乎都会利用基因组学研究的成果, 而且只有充分利用基因组学研究的成果, 才能最有效地获得科研突破, 实现临床防治的效果。

由于20世纪80年代的中国首先要实现人民生活温饱, 科研投入有限, 中国对于基因组研究最初的响应是参加由日本牵头的国际水稻基因组计划。水稻是代表单子叶植物的重要的模式生物, 又是中国人民的主食农作物, 这样的选择是有道理的。当然, 中国生物医学科学家们也在为人类基因组研究做准备。1994年, 时任国家自然科学基金委员会生命科学部主任的吴旻院士, 在当时主管生命科学部的基金委副主任梁栋材院士的积极支持下, 成功设立了中国人类基因组第一个重大项目“中华民族基因组若干位点基因结构的研究”。此后, 从科学家到政府逐步形成两个共识。一方面是中国人口基数大, 不仅占世界人口总数的22%, 是亚洲人群的主要代表; 而且中华民族是一个多民族群体, 曾经有丰富的地域隔离与融合的历史, 因此我国丰富的人类遗传资源

是研究人类遗传多样性、人类进化和人类疾病相关基因的宝贵材料。另一方面,我国生物医药产业发展和人民生命健康保障都离不开中国人自己的基因组信息,这一点不能仅依靠国外研究产生的数据,必须得有中国自己的基因组计划,获得具有自主知识产权的研究成果。因此,20世纪90年代中后期,在特定的历史机遇如创新工程、积极财政、科教兴国和人才回归等条件下,中国的人类基因组计划走到了“水到渠成”的历史关口。

1997年7月,谈家桢院士上书中央,呼吁保护我国遗传资源,建议加快我国人类基因组研究进度。江泽民总书记在第一时间批示:人无远虑必有近忧,我们得珍惜自己的基因资源^[2]。国务院领导随即召开有关部委会议,做出了“保护和利用我国人类遗传资源,促进我国人类基因组研究”的重大决策。从此,中国的人类基因组研究进入快速发展阶段。在第9个五年计划期间,共启动了4个方面的工作。(1)参与国际人类基因组计划的“两个1%”,即完成1%人类基因组DNA(约30 Mb)的测序工作,以及1%人类基因cDNA(约500~1 000个)的克隆和鉴定工作。(2)开展医学基因组学研究,即科技部与卫生部合作,支持建立全国人类疾病遗传资源收集网络,从单基因疾病开始进行疾病基因鉴定;同时,从建立单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分析技术开始,建设从单体型图(HapMap)到全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)的技术平台。(3)开展以人类健康为宗旨的功能基因组学研究,包括以转录组(transcriptome)为基础的表观基因组学(epigenomics),以及蛋白质组(proteome)和结构基因组学研究等;此外,模式生物(model organisms)和生物信息学也是两个非常重要的研究内容。需要说明的是,虽然人类基因组计划的研究重点是人,但仍然包含模式生物,特别是实验动物的研究内容。(4)有关伦理、法律和社会问题(ethical, legal and social implications, ELSI)的研究,这也是一个非常重要的部分。中国正是从开展人类基因组研究以来,才认识到必须重视这些问题,开

始成立这方面的研究机构。国家人类基因组南方研究中心在全国最早成立了专门的伦理、法律与社会问题研究部,并于2003年,以其研究成果,支撑科技部和卫生部出台了《人胚胎干细胞研究伦理指导原则》^[3],此原则一直适用至今。

2 比较医学的历史与发展趋势

2.1 比较医学的发展历史

比较医学研究动物与人类生命现象之间的关系,是以动物(特别是实验动物)科学为基础,对人类各种疾病进行类比研究的一门综合性前沿学科。但实际上,利用动物进行比较医学研究最早开始于公元前三百多年,至今已经有两千多年的发展史,为促进动物及人类医学发展发挥了举足轻重的作用(表1)。

比较医学的一个重要研究对象是实验动物,即模式动物。检索PubMed数据库中,全世界近70年来有关模式生物研究的相关文献,可以发现模式植物/微生物如拟南芥、大肠杆菌和酵母相关的论文数有57.8万篇,以线虫、果蝇和斑马鱼为模式动物的研究论文数有12.7万篇,而单单以小鼠为比较医学模型的论文数竟然高达128.2万篇。这充分说明,小鼠是比较医学研究中一个非常重要的实验动物模型,比较医学研究已经成为生物学和医学发展的重要基础,对人类医学发展贡献很大。当然,比较医学研究涉及到的动物模型有很多,除了小鼠外,还有大鼠、仓鼠、猪、羊、猴、雪貂和树鼯等,人们还在不断开发新的实验动物资源。最近,上海某团队正在研究骆驼,因为骆驼是一种血糖水平很高但不发生糖尿病的特殊动物,对其进行比较医学研究有望为治疗人类糖尿病带来新的希望。

2.2 比较医学的发展趋势

比较医学的发展大体上可以分为3个阶段。

第一阶段是早期的比较医学。西方学者比较早地认识到人也是动物(人属于脊椎动物、哺乳动物、灵长类动物),所以在组织、器官和整体水平上可以和不同种系的动物进行生理和病理异同的比较。这也是最早期的生物分类学和解剖医学。因此,从这一点上说,西医是建

表 1 比较医学发展的重要历史事件

Table 1 Landmark events in the history of comparative medicine

年 代	发现人	发 现	所用动物
BC384~332	亚里士多德 (Aristotle, 古希腊)	比较动物解剖和胚胎	鱼、牛、羊
1628	哈维 (Harvery W, 英)	血液循环	犬、蛙、蛇、鱼、蟹
1665	拉沃 (Lower R, 英)	犬输血研究	犬
1792	捷纳尔 (Jennr E, 英)	牛痘保护人不生天花	牛
1878	科赫 (Koch R, 德)	细菌与疾病的关系 (炭疽病、结核)	牛、羊、其他
1880	巴斯德 (Pasteur L, 法)	细菌致弱毒免疫	鸟类
1885	巴斯德 (Pasteur L, 法)	狂犬病疫苗	鸟类、家兔
1890	莱夫勒 (Loffler F, 德)	白喉杆菌病、抗毒素治疗	豚鼠
1904	巴甫洛夫 (Pavlov I P, 俄)	心脏生理、消化生理、高级神经活动	犬
1921	班廷 (Banting F G, 加拿大)	胰岛素与糖尿病	犬
1936	洛伊 (Loewi O, 奥地利)	副交感神经的神经介质为乙酰胆碱	蛙
1968	佩蒂路易斯 (Pantelouris E M, 英)	先天性无胸腺裸小鼠	小鼠
1980	斯纳尔 (Snell G D, 美)	动物组织相容性抗原	小鼠
1984	科勒、米勒 (Kohler G, Milstein C, 英)	单克隆抗体技术	小鼠
1997	维尔穆特 (Wilmut I, 英)	用羊体细胞克隆成功“多莉”羊	绵羊

注：本表为不完全统计。

立在以解剖学和比较医学基础上的医学，与中医有着巨大区别。

第二阶段是近代比较医学，即应用人工培育的各种实验动物（包括近交系、免疫缺陷和无菌及悉生动物等）建立各种模拟人类疾病的动物模型来研究疾病，或开发治疗药物。可以说，这一阶段的比较医学是近代病理学、生理学和药理学的基础。很多用实验动物建立的模型也是药物鉴定的重要数据来源。

第三阶段即现代比较医学，是从 20 世纪末开始，也就是从人类基因组研究开始，一直到系统生物学与合成生物学发展，比较医学进入了新的阶段。

系统生物学，特别是系统生物医学研究的目的是系统地认识人；而合成生物学是以改造或创造生命系统为目的。因此，现代比较医学的第一个重要特点就是实验动物人源化，即通过转基因、基因打靶、基因编辑和克隆等技术，构建“人源化”的基因工程动物，以此便于与人类的生理与病理现象对应比较。同时，当在基因组学基础上发展起来的系统生物学手段被普遍应用于实验动物的研究时，实验动物模型与人类生理、病理的异同也日益清晰，人类在比较医学研究中也越来越采用类人化的实验动物模型构建方

法。现在，人们已经认识到，研究实验动物不是为了认识动物，而是为了认识人类疾病与健康的机制。因此，进行比较医学研究时需要选择合适的动物模型，至少在被研究的某部分（器官、系统）或某阶段（健康或疾病阶段）要与人相似，否则一些药物即使在动物模型上有效，应用于人就无效。实验动物模型的类人化非常重要，这是现代比较医学的第二个特点。现代比较医学的第三个特点是物理、化学、计算机和工程技术的会聚，实验动物建模和检测体系更加趋于精准化。例如脑科学研究中，生物医学与计算机和物理光学等多学科的融合更加紧密，实验动物建模和检测技术、手段需要越来越精准，趋于数字化、信息化和网络化发展。

2.3 人类与实验动物作为研究对象的比较

对比人类和动物作为生物医学研究对象的异同（表 2），可以看出，现代医学研究最好的对象应该是人，因为人类遗传信息丰富，尤其是人类基因组计划实施以来，人类比动物的基础性研究信息要量大、质量高；另外，人类有语言功能，比动物更容易收集到更多信息，行为便于观测。因此，循证医学研究、队列（人群）研究或药物临床试验等都是以为研究对象的很常用也很有效的一些研究。然而，以人为研究对象

时，那些具有高风险的实验以及创伤性的取样等在伦理上很难或几乎不可能实现。相比之下，以实验动物为对象的基础及应用研究会更易于控制条件、设置对照，甚至可以活体取样解剖，具

有很多的优势。当然如何合适地建立人类疾病动物模型，并组合使用好模型，简单地说，动物模型人源化或类人化，依然是当前比较医学的一个难点。

表 2 人类与实验动物用于医学研究对象的异同

Table 2 Comparison between human and laboratory animals as medical research subjects

特 征	人 类	实验动物
遗传信息	测序个体多，质量高，多维度 / 复杂，但有参比	比较局限，纯或较纯，背景较一致，基础性工作少
表型检测		
望	观测 + 仪器 + 影像；行为观测有伦理及操作困难，但易于配合	观测 + 仪器 + 影像；行为观测伦理问题简单，但难以有“配合”
闻	嗅 + 仪器	仪器？
问	有语言功能，多方面、多时段问诊	无语言功能
切	可配合触诊 + 仪器	不配合触诊，仪器使用受限
细胞 / 分子检测	少部分活体取样，无创或微创 + 手术取材，或尸检	任意取样
对照实验	适用于循证医学研究、队列（人群）研究、药物临床研究；伦理要求更高	可多种途径建模，易控制条件，易设置对照，可活体取样解剖；但难以符合人体疾病标准，因此难点是合适建模、组合用模

例如，在研究人类代谢机制和代谢相关疾病时，直接用人类样本有两大难题：一是饮食控制难（也属于依从性差的问题），二是组织样本收集难。而实验小鼠的代谢笼就比人类代谢实验室的投资小，收益大。到目前为止，代谢疾病模型，如肥胖、糖尿病和酒精肝损伤小鼠模型等，都获得了很多的研究成果^[4]。需要说明的是，小鼠作为代谢疾病模型用于药效测试，仅能用其可用之处，例如小鼠的脂代谢（特别是胆固醇代谢）与人类相去甚远。因此，在做降胆固醇药物测试的时候，就要用与人类胆固醇代谢较相似的金黄仓鼠模型^[5]；如果测试有效，再用大鼠、小鼠做机制研究^[6]，这才是可以的。

在研究人类神经心理机制以及精神性疾病和治疗手段时，一般常用小鼠的行为（如运动、探索、记忆、社交和痛觉等）表型建模，如筑巢试验、嗅探试验、梳洗试验、Y 迷宫、水迷宫、高架十字迷宫、强迫游泳试验、悬尾试验和旷场试验等，它们一般都能够实施定性、量化的行为学观测和指标评价。但是，在这方面建立合适的小鼠疾病模型也是不容易的。目前已经建立的神

经系统疾病模型有精神分裂症、饮酒成瘾、坐骨神经痛、抑郁症和焦虑小鼠模型^[7-9]。当然，在这个方面，非人灵长类动物模型有着特殊的优势，因为非人灵长类动物的探索方式和过程与人类接近。本研究团队曾经开展过食蟹猴行为学研究，包括运动、探索、防御、社交、昼夜节律，以及对新鲜事物和潜在危险情形的反应等，效果很好^[10-11]。

还有一个经典例子是阿尔茨海默症（Alzheimer disease, AD）动物模型。由于 AD 是多因素参与、形成过程很长的复杂疾病，单一转基因模型均有局限，因此进行 AD 药物研究时需要运用多种模型（如多种转基因或基因敲除模型联合药物诱导模型）组合来进行行为学检测、肠道菌群分析、免疫功能分析、代谢组检测和神经内分泌的全方位综合研究，才能筛选出有效的 AD 治疗药物^[12-13]。

总之，比较医学发展到今天，如何建立类似人类复杂体系、复杂疾病及相关复杂机制的动物模型是生物医学研究的关键基础。

3 后基因组时代：从系统生物医学到精准医学

进入 21 世纪，在人类基因组计划成功完成的基础上，一方面以高通量二代测序技术能力支撑的针对人类基因组更全面、更精细的各种大规模基因组测序计划不断发展（从千人到如今的百万人）；另一方面，以全面认识基因组功能为目的的各种生命“组学”，如转录组（以及相关的表观基因组）、蛋白质组（以及相关的结构基因组）和代谢/代谢物组的研究，受到顶层设计指导下高通量大规模的“功能基因组”、“疾病基因组”和“药物基因组”等研究计划的推动，也迅速次第崛起。这一系列“组学”研究积累了与人类生理、病理相关的大量的数据与信息。由此，在这些数据基础上，自上而下以系统认识健康与疾病机制为目的的系统生物医学研究体系应运而生。当然，系统生物医学研究的对象与人类基因组研究的对象一样，依然是人类自身。所以，它必须将生物医学研究和临床研究紧密结合在一起，不仅让生物医学研究成果向临床转化，而且更为重要的是，将临床上发现的问题转化为生物医学研究的命题，即形成以系统生物学思想指导，以“组学”技术支撑的临床研究课题。如此，转化医学就成为生物医学研究的最重要的平台。这个平台，一方面将临床医务工作者推向了研究型医生（research physician）的高度，另一方面也将医学在认识和有效应用疾病分子靶标的基础上，推向了可预测（predictable）、可预防/干预（preventive/preemptive）、个体化（personalized）和参与性（participatory）4P 医学的高度。当然，这两个方面的提升都将生物医学数据和信息的量与质提到了一个新的高度。

到 2015 年，生物医学相关数据已经达到了 EB 量级（ 10^{18} ），标志着生物医学研究进入了大数据时代。在过去的人类研究历史上，只有 2 个学科的数据超过 EB 级：一个是天文学（全世界的天文望远镜每天收集的数据信息总和），另一个是物理学（全世界的粒子加速器收集的实验数据总和）。如今生物医学成为了第 3 个拥有海量数据的学科^[14]。

数据之间建立的关系是信息，信息之间建立

起机制性乃至因果性的关系就是知识。当然，为了让生物医学知识能造福人类，还必须将这些知识转化为针对疾病和服务病人的医院工程和医生智慧，最后落实到每个人身上，而这就是所谓“依据个体的差异（遗传与环境），制定相应的疾病预防和治疗方案”的“精准医学”的目标。这个目标，在现代的拓展与深入，实质上就是基于：（1）系统生物医学研究所带来的包括人类基因组数据、与患者生活环境相关的“暴露组”数据，以及临床研究数据等大量数据；（2）现代强大的检测病人的技术方法所带来的多“组学”检测数据，以及分子影像与患者生理、病理相关的实时动态监测数据；（3）对这些生物医学大数据进行有效的计算分析技术。换言之，没有包括病人真实世界数据在内的生物医学大数据的获取、整合、分析、挖掘，就没有今天基于对疾病精准的分类诊断，并赋予精准的药物或防治手段的“精准医学”。同时，“精准医学”是在通过对病人个体的检测分析、治疗方案设计、临床试用反馈，再进行积累和统计而逐步完善的。因此，精准医学研究也是一个群体研究与个体研究相结合的过程，特别是在个体开展的时序性、多“组学”检测研究，以及由此带来的多尺度、高维度、异质性的复杂大数据的爆炸性增长，更是人类生物医学研究中从未遇到的挑战与机遇。人类，从群体到个体，都成为了医学研究最好的对象。个人在整个生命周期中也能从精准医学中直接获益，这可能是人类发展史上一个伟大的革命！

4 生物医学大数据和比较医学面临的挑战

一般来说，生物医学大数据与其他领域的大数据一样具有 4V 的基本特征：量大（volume）、速度快（velocity）、复杂（variety）、真实（veracity）。但是，生物医学数据与其他数据相比，因为其包括物理、化学和生物学的各种不同层次，类别更为复杂；而真实性也容易受各种自然或社会因素的干扰。因此，生物医学大数据在其“原始层面”上的“价值密度”是比较低的，这也正是在生物医学大数据带来的巨大发展机遇下，我们所要面临的同样巨大的技术与管理

方面的挑战。

所幸, 生物医学大数据的构成中有相对量较少, 但兼具设计性、结构化、受质控的三类研究型数据。第一类是以人为对象的系统生物学研究数据, 特别是国际人类表型组 (phenome) 研究所获得的关于人类表型的数据, 以及脑计划研究所获得的关于脑结构与功能图谱的数据。第二类是以人群为对象的转化型研究数据, 包括专病或一般人群队列研究、流行病学调查, 以及循证医学研究与药物临床研究等的研究数据。这两类数据都是以人为对象的研究型数据, 是生物医学大数据标准化质控的核心基础。第三类是以实验动物为基础的比较医学研究数据, 大多来源于实验室、研发中心和药企。实验动物与比较医学研究数据不仅有设计和质控, 更具有人群试验难以获得多种“正负处理”的对照实验结果, 也有相应的组织器官的创伤性检测数据, 这对人体的生物医学大数据的标准化质控具有重要的借鉴意义。总之, 上述三类数据共同组成了生物医学研究型大数据的核心。

基于这个不容否认的现实, 今后我国生物医学研究工作的重点是建设针对上述研究型核心数据的国家生物医学大数据治理体系; 其核心是以大数据仓库/知识图谱为基础的集成“高质海量数据”、“快速专业计算”和“整合智能分析”能力的“国家生物信息中心”; 并在此基础上, 建立采用同样标准规范的地域专业数据枢纽, 形成逻辑统一、物理分布的“以递交为基础、整合为导向的数据存储, 以主题为基础、交互为导向的数据共享, 以及以传统信息技术为基础、前沿智能技术为导向的数据挖掘”的数据治理创新链。

目前, 比较医学研究也要面对进入“大数据时代”带来的新的机遇和挑战。首先, 要认识比较医学与生俱来的“交叉会聚研究”特征, 突出强化比较医学研究人员和实验技术人员的交叉学科知识与研究能力的提升, 从模型建立到研究实验方案设计上, 寻求突破。其次, 要抓住基因组编辑、干细胞克隆、3D 细胞培养和人工器官等“使能技术创新”, 实现比较医学研究手段与实验技术的突破。第三, 充分认识大数据时代带来的机遇, 抓紧建设实验动物数据体系, 推

进比较医学研究的“数据智能转化”。最后, 不忘比较医学服务人类健康科学与医学研究的初心, 进一步推进实验动物人源化以及类人动物模型的建设, 力争把比较医学“精准类人服务”提高到一个新的水平, 真正提高为人类健康服务的效率与质量。

5 总结与期许

最近, 习近平总书记讲话强调, 科学研究要特别重视原始创新能力的提升^[15]。在比较医学研究领域, 与其他科研领域一样, 首先要鼓励探索, 突出原创, 就是要抓住思想火花, 敢于探索从 0 到 1 的工作; 第二, 聚焦前沿, 独辟蹊径, 一定不能跟在别人后面亦步亦趋, 而要直面前沿科学问题, 创出自己的科研新路; 第三, 需求牵引, 突破瓶颈, 在面对需求问题时, 要努力抓住核心的“卡脖子”问题, 也就是关键问题; 最后, 共性导向, 交叉融通, 利用比较医学研究交叉会聚的天然特征, 充分运用各种技术、各种模型, 综合解决重大问题。

致谢: 感谢中国人民解放军军事科学院军事医学研究院杨晓研究员和中国科学院上海药物研究所耿美玉研究员提供素材资料, 感谢海南金港生物技术股份有限公司多年来在非人灵长类研究及实验动物数据体系建设等方面给予的支持。

参考文献:

- [1] DULBECCO R. A turning point in cancer research: Sequencing the human genome[J]. Science, 1986, 231(4742): 1055-1056. DOI:10.1126/science.3945817.
- [2] 黄辛. 写在人类基因组南方中心成立 10 周年之际[N]. 科学时报, 2008-11-19 (A2). <http://news.sciencenet.cn/htmlnews/2008/11/213385.html>.
- [3] 中华人民共和国科学技术部, 卫生部. 人胚胎干细胞研究伦理指导原则: 国科发生字(2003) 460 号[A/OL]. (2003-12-24)[2020-01-01]. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2003/200512/t20051214_54948.htm.
- [4] 杨丽霞, 黄宗涛, 刘铜华, 等. 代谢性疾病实验动物模型的建立与评价[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(4):318-322. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2009.04.020.
- [5] HUANG H Q, XIE Z H, BOUE S M, et al. Cholesterol-lowering activity of soy-derived glyceollins in the golden

- Syrian hamster model[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(24): 5772-5782. DOI:10.1021/jf400557p.
- [6] LU S H, GUAN J H, HUANG Y L, et al. Experimental study of antiatherosclerosis effects with hederagenin in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015:456354. DOI:10.1155/2015/456354.
- [7] WU J H, ZOU H, STRONG J A, et al. Bimodal effects of MK-801 on locomotion and stereotypy in C57BL/6 mice [J]. Psychopharmacology, 2005, 177(3):256-263. DOI:10.1007/s00213-004-1944-1.
- [8] WANG K, SONG H, JIN M, et al. Chronic alcohol consumption from adolescence to adulthood in mice: hypothalamic gene expression changes in insulin-signaling pathway[J]. Alcohol, 2014, 48(6):571-578. DOI:10.1016/j.alcohol.2014.07.001.
- [9] WANG K, SONG H G, JIN M L, et al. Chronic alcohol consumption from adolescence to adulthood in mice — Hypothalamic gene expression changes in insulin-signaling pathway[J]. Alcohol, 2014, 48(6):571-578. DOI:10.1016/j.alcohol.2014.07.001.
- [10] GUO N, GU X, ZHAO J, et al. Maxillary nerve compression in cynomolgus monkey *Macaca fascicularis*: altered somatic sensation and peripheral nerve firing[J]. BMC Neurosci, 2012, 13:150. DOI:10.1186/1471-2202-13-150.
- [11] ZOU H, LIU M, LUAN Y, et al. Pattern of novel object exploration in cynomolgus monkey *Macaca fascicularis*[J]. J Med Primatol, 2017, 46(2):19-24. DOI:10.1111/jmp.12251.
- [12] SCEARCE-LEVIE K, SANCHEZ P E, LEWCOCK J W. Leveraging preclinical models for the development of Alzheimer disease therapeutics[J]. Nat Rev Drug Discov, 2020, 19(7):447-462. DOI:10.1038/s41573-020-0065-9.
- [13] WANG X Y, SUNG Q, FENG T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. Cell Res, 2019, 29(10):787-803. DOI:10.1038/s41422-019-0216-x.
- [14] 张国庆, 李亦学, 王泽峰, 等. 生物医学大数据发展的新挑战与趋势[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(8):853-860. DOI:10.16418/j.issn.1000-3045.2018.08.013.
- [15] 习近平. 在科学家座谈会上的讲话[EB/OL]. 新华网, 2020-09-11. http://www.xinhuanet.com/politics/2020-09/11/c_1126483997.htm.
- (收稿日期: 2020-11-21 修回日期: 2021-01-25)

《实验动物与比较医学》入选

2020 中国医药卫生“核心期刊”目录

(详情请见本刊官网)



唐利军, 男, 研究员, 湖北省政府特殊津贴专家, 美国乔治亚大学访问学者, 湖北省实验动物学会理事长, 湖北省卫生监测检验防护所所长。相继创建了湖北省医学实验动物中心、湖北省实验动物研究中心、湖北省实验动物质量检测站、湖北省食品药品安全评价中心、武汉国家生物产业基地动物实验中心、应用毒理湖北省重点实验室、国家新药 GLP 实验室、国家农药毒理 GLP 实验室和辐射安全流行病学联合实验室等。承担过国家实验动物专项、科技部基础专项、“非典”应急专项、“新冠肺炎”疫情应急科研专项等课题。发表论文数十篇, 其中 SCI 论文 6 篇, 出版专著 6 部。获得湖北省科技进步三等奖 2 项、二等奖 1 项。

西双版纳会议与湖北省实验动物科技发展 40 年历程

唐利军

(湖北省疾病预防控制中心, 武汉 430079)

[关键词] 实验动物; 科技发展; 西双版纳会议; 湖北省

[中图分类号] Q95-33 [文献标志码] B [文章编号] 1674-5817(2021)01-0009-05

History of Xishuangbanna Conference and Development of Hubei Laboratory Animal Science and Technology in Past 40 Years

TANG Lijun

(Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, China)

[Key words] Laboratory animal; Development of science and technology; Xishuangbanna Conference;
Hubei Province

受《实验动物与比较医学》杂志发起的“各地实验动物科学 40 年发展”专题征文通知启发, 笔者回顾自己从事实验动物科技工作的经历, 可以说是与该刊同步成长。而对于湖北省实验动物科技发展 40 年历程而言, 本人既是参与者, 也是决策人之一, 曾于 2014 年参与主编出版过《湖北省实验动物科技发展回顾 (1988—2014)》^[1]一书。因此, 当该刊编辑约稿, 本人欣然应允。回顾往昔, 记忆最深的应该是 1982 年国家科委在云南西双版纳主持召开的第一次全国实验动物工作会议 (本文简称“西双版纳会议”), 这次会议对湖北, 乃至全国实验动物科学的发展都具有巨大影响及里程碑意义。因此, 笔者想从西双版纳会议开始, 谈一谈湖北省实验动物科技发展的 40 年历程。

1 西双版纳会议的历史背景

我国实验动物科学起步较晚, 解放前只有北

京、南京、哈尔滨和云南等少数机构有文献记载, 解放后其发展也很缓慢。1978 年“全国科学技术大会”召开后, 我国开始对外科技交流。1980 年, 哈尔滨某医科大学某位副校长受卫生部派遣, 去日本开展重要的“克山病”医学论文交流, 因当时研究使用的实验动物来源不清、动物实验条件不可控, 被国外学者认为“实验结果的科学性不够”, 取消了其在大会上交流。鉴于该重大事件, 卫生部当即决定在湖北省卫生厅所属的湖北省医学科学院湖北省卫生防疫站 (现更名为湖北省预防医学科学院湖北省疾病预防控制中心) 举办首次“全国医用实验动物饲养管理专业进修班”, 相关通知以卫医教 (1980) 字第 86 号文正式下达。进修班的具体承办人为原湖北省卫生防疫站实验动物室主任孙昌惠老先生, 主要授课老师有华中农学院 (现为华中农业大学) 的汪定基、刘钟灵、邓霭祥、韦善书、叶玉林、周扬林、胡今尧和罗伏根^[2]教授, 以及湖北省实



注：前排左起依次为汪定基、刘钟灵、鄢列度、叶玉林、罗伏根、孙昌惠、马承融、胡今尧、韦善书、邓霭祥、廖积德、周扬林和章贤忠。

图1 1980年全国首届医用实验动物饲养管理进修班结业合影

验动物学界的老前辈廖积德、章贤忠和鄢列度等老先生。这次进修班上，湖北省科委胡凌副主任等出席讲话。来自全国的学员共37人（图1），学期5个月。除理论学习外，学员还被组织到上海等地参观学习。同年，武汉生物技术公司陆隆沐研究员、原同济医学院朱清华教授被派往美国参访、学习，成为湖北省首批出国学习的实验动物科技专家及领路人。

1981年，河南省两个地区17个县由于使用了不合格的实验动物生产的生物制品导致猪瘟流行，国家赔款300多万元。1981年6月25日，应上海实验动物科学组邀请，美国马里兰州州立大学比较医学系主任、著名实验动物学家徐兆光博士与上海实验动物学界、医药界30多位代表在科学会堂举行了座谈会，并针对我国实验动物科学与国际同行的差距及最新科技进展共商发展大计。同年9月17日，首次“全国高级实验动物科技讲习班”在北京开办，徐兆光博士应邀在该班讲课，国家科委、卫生部和农业部，以及中国科学院、中国医学科学院、中国农业科学院和中国人民解放军军事医学科学院等单位都派出了学员听课，并参与讨论。徐兆光博士展示了当时世界上先进国家实验动物科学的发展概况，在学员中引起了轰动。受讲习班及上述系列事件的影

响，全国几十位专家教授挑灯讨论，撰写了一份万言书，引起全国人大、政协会议关于实验动物问题的提案。随后，国务院授权国家科委在中国科学院调查研究的基础上，责成国家科委主抓实验动物工作，并提出了“关于改进我国实验动物工作的若干意见”^[3]，成为我国第一个有关实验动物科技管理工作的政策文件。徐兆光博士因此成为我国现代实验动物科学事业发展的一位关键人物。在此背景下，1982年11月23—28日，“首次全国实验动物工作会议”在云南西双版纳召开^[4]。此时，笔者正好通过老师知晓了我国实验动物科学的落后现状，开始将其作为我终身奋斗的事业。

2 西双版纳会议的主要精神及影响力

这次具有历史意义的西双版纳会议共有143人参加，我国实验动物学界代表中比较有名望的老先生，如钟品仁、孙靖、漆畹生、胡开元、舒家模、卢耀增和吴炳铨等均有参会。会上由国家科委副主任杨浚做主旨讲话。6天的会议中，有17名代表在大会上交流发言，10名代表在分组会上发言；上海市畜牧兽医学学会实验动物科学组给大会发贺信，参会上海代表提出创办中国实验动物学会及中国实验动物科学杂志的倡议。会

议明确提出了实验动物开发研究、生产供应和实验应用三方面涉及到的技术引进、人才培养、法制化管理、笼器具研制、饲料研发等具体工作的分工合作建议,并形成了《全国实验动物工作规划要点》及相关的指导思想、原则、方针及共识。原国家科委条件财务局王广军局长在总结发言中强调,要结合我国实际情况统一规划、合理布局、逐步发展,要在规划要点的基础上明确国家级中心、行业应用中心和省(市、区)区域中心之间的职责发挥与相互协调合作关系,要提高饲养管理技术及动物质量,要加快人才引进与实验动物质量监控标准的制定,并要积极开展实验动物资源开发与科学研究等。

这次会议为开创我国实验动物工作的新局面做好了组织、规划、宣传、学科与人才准备,吹响了我国实验动物科学技术向世界高峰攀登的号角,也是我国实验动物科学开始支撑生命科学研究与技术快速发展的奠基石。会后不久,北京、上海、天津、云南4个国家级实验动物中心相继成立^[5],其中天津中心采用西德集装箱式SPF级饲养室建设模式^[6],北京中心采用澳大利亚的屏障设施建设模式,上海中心采用英国实验动物屏障设施建设模式,而云南中心则以灵长类实验动物培育为特色。从此,实验动物科技事业在全国各地蓬勃发展,人才辈出,成果丰硕。

3 西双版纳会议对湖北省实验动物科技发展的促进作用

受西双版纳实验动物工作会议的影响,湖北省的实验动物科技工作在上述前辈们的不断推动,以及湖北省历届政府领导包括梁淑芬、韩南鹏、郭生练和周济等的直接支持下,紧跟全国发展步伐,各方面都取得了较大成绩。

3.1 湖北省实验动物法制化管理进入全国先进行列

继西双版纳会议后的1985年,国家科委又在北京召开了第二次全国实验动物科技工作会议,并制定了发展规划、战略目标、七件大事和《实验动物管理条例》草案^[7]。1987年9月,湖北省卫生厅率先成立了“湖北省医学实验动物管理委员会”(简称“省医动管会”,办公室设在湖北省医学科学院实验动物室,冯楚北任常

务秘书),同时颁发了《湖北省医学实验动物管理暂行办法》及《湖北省医学实验动物合格证暂行条例》,实验动物合格证法制化管理制度正式建立。1993年3月,湖北省科委根据国家科委2号令即《实验动物管理条例》精神,以鄂科财(1991)017号文宣布成立了由国家计委、卫生部、中医药管理局等部门组成的“湖北省实验动物管理委员会”,胡凌副主任为主任委员,并推动湖北省人民政府以鄂政发(1993)79号文正式颁布《湖北省实验动物管理办法》这一行政法规。1995年10月,卫生部推行统一的《医学实验动物管理委员会合格证管理办法》后,湖北省卫生行业的“实验动物质量合格证”和“实验动物环境条件合格证”逐步被卫生部“医学实验动物合格证书”、“医学实验动物环境设施合格证书”、“医学实验动物饲料生产合格证书”及“医学实验动物全价饲料合格证书”取代,并推行“湖北省实验动物技术人员资格证”准入制度。

2000年国家《实验动物质量管理办法》出台后,湖北省科技厅便以鄂科发财(2001)48号文调整了湖北省实验动物管理委员会成员,并替代“省医动管会”的职能,范道宠为办公室主任,唐利军等为副主任。根据《省级实验动物质量检测机构管理办法》及国家实验动物质量检测中心专家组的技术审查意见,以鄂科财(2000)13号文批准成立“湖北省实验动物质量检测站”,成为全国第5个获得国家认可的省级实验动物质量检测机构,并发布了《湖北省实验动物质量检测机构管理办法》和《湖北省实验动物许可证管理办法》,为推行全国统一的许可证制度做好了技术支撑准备。

2002年的重症急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)——一种由SARS冠状病毒引起的以非典型肺炎为主症状的急性呼吸道传染病(俗称“非典”)大流行把人们的视线引向野生动物,也引起人们对实验动物生物安全的高度关注。湖北省科技厅领导及实验动物专家借此重大公共卫生事件,积极推动实验动物地方立法进程。首先通过现状调查与电视、媒体宣传,引起省政协与省人大代表的相关提案,并被

湖北省法制办列为优先立法项目向社会公示,得到了全社会的积极响应,因而进入立法程序。接着成立专项立法工作组,赴北京、上海等地调研,形成立法文件。在进入人大立法专业委员会及全体委员会审查阶段,省科技厅全部领导按照人大相关专业委员会审查要求,分别配备湖北省主要的实验动物专家作为答辩顾问,很顺利地通过了各委员会的立法审查。最后在2005年7月29日湖北省第十届人大常委会第十六次会议上,通过了《湖北省实验动物管理条例》^[8](下文简称《条例》),成为继北京市以后第2个对实验动物管理工作实施地方立法的省份。

为配合立法工作,湖北省科技厅除设立专项并组织专家到各地开展《条例》普法宣传外,还在武汉大学和华中科技大学设立了两个培训基地,免费为全省实验动物从业人员培训上岗技能与专项技能。同时,建立了规范化的实验动物公共服务信息平台,施行实验动物交易及使用许可证管理,在全国率先推行网上开具实验动物质量合格证和设施合格证的工作,并得到了北京、广东和湖南等8个省市的响应。随后还相继发布了《湖北省实验动物从业人员岗位培训管理办法》和《关于在科技计划和成果管理工作中加强实验动物管理的通知》,在每年的科技项目立项与成果奖励方面推行“实验动物一票否决”制度,为实验动物法制化、标准化、动物福利伦理管理等工作的落实打下了很好的基础。目前,湖北省现有实验动物生产许可证21张、实验动物使用许可证79张。

3.2 湖北省实验动物标准化与专业化进程体现了地方特色

湖北省实验动物标准化体系建设工作起步较早。1980年卫生部就资助湖北省开展实验动物饲养管理技术培训工作,开发了湖北省实验动物科技的智力资源。1982年,湖北省学术界专家向省科委提出了实验动物饲料标准化、规范化、颗粒化的建议,并得到资助。由湖北省医药工业研究院胡维安牵头,成功研制出HP-4型多功能颗粒饲料机械;各会员单位(如原湖北省药品检验所、湖北省医学科学院、武汉医学院、湖北医学院和武汉生物所等9家单位)按照分工,积极提供了近 5×10^4 kg配方原料,试制成不同规格

的颗粒饲料,供各单位分别引进的不同种类常用标准化品种、品系实验动物开展饲养效果研究,并收集了不同种类动物的饲养效果实验数据。所研制的加工设备体型小、使用方便,颗粒饲料饲养效果好。该标准化研究成果奠定了湖北省实验动物科技工作的基础,也受到国内同行的青睐和应用。

1988年,国家科委2号令颁布以后,武汉军区总医院及湖北省药品检验所相继建设了专业的实验动物建筑设施。1990年,湖北省医学科学院改建了100 m²的BALB/c裸小鼠繁殖生产与应用实验室。1993年,同济医学院建立了990 m²的标准化清洁级实验动物生产楼。1999年,投资1 056万元、年产30万只SPF级动物的湖北省实验动物研究中心正式投入运行,标志着湖北省实验动物标准化工作与国际标准成功接轨。

2003年,武汉大学A3动物实验室正式投入“非典”科技攻关服务,成为全国第一家生物安全三级动物实验室^[9]。2007年,湖北省疾病预防控制中心获得国家药物GLP证书,成为全国第一个进军新药安全性评价领域的实验动物机构。2012年该机构又建设了武汉国家生物产业基地,创建了湖北省食品药品安全评价中心及占地14 130 m²的标准化动物实验技术平台。2018年,国家首个P4实验室在湖北省武汉市江夏区的中国科学院武汉病毒研究所投入运行,其中的动物实验条件为我国两种新型冠状病毒(简称“新冠”)疫苗及埃博拉病毒疫苗的成功研制奠定了坚实的基础。另外,湖北天勤生物技术有限公司的灵长类动物更是在我国5种新冠疫苗研发与疾病应急攻关研究中发挥了独特的作用。武汉生物制品研究所有限责任公司研制的新冠灭活疫苗已进入III期临床试验^[10-11],有望成为国际公共防疫产品。

此外,湖北省独特的标准化实验动物种质资源还包括中国科学院的昆虫、斑马鱼与稀有鮡鲫等。全球大部分科研用抗体生产供应来自武汉三鹰生物技术有限公司的动物实验室。近年来,湖北省每年标准化实验动物的生产与使用量均在100万只以上,实验动物设施总面积达116 339 m²(含办公区域及辅助实验室),固定资产总额在70 379.71万元以上。

3.3 湖北省实验动物学术及科技交流活动形式多样

1981年3月,隶属于湖北省畜牧兽医学会的湖北省实验动物科学专业委员会成立,湖北省药物检验所何家酿为组长,湖北省医学科学院鄢列度为副组长。1983年,湖北省医学科学院卢笑丛、同济医学院孔利佳、湖北医学院周洪元三位年轻技术骨干参加了江苏农学院(现扬州大学)举办的全国实验动物技术培训班,后来成为湖北省实验动物学界首批高级技术人才。1986年,湖北省实验动物学会经省科协批准,在省民政厅完成登记,成为一级法人学术团体,陆隆沐和吴亦帆两位老先生分别担任学会首届理事长和秘书长,从此湖北省内实验动物科技领域的学术活动走上了正轨。

医学实验动物学术交流与实验动物管理工作交流也分别在卫生部及科技部的组织下,不定期在全国各地陆续开展。1992年,湖北省医学科学院唐利军、湖北省人民医院范明霞、武汉生物制品所翁亮保参加了中国实验动物人才培训中心举办的中日合作 JICA 项目——“全国首届实验动物饲养管理技术培训班”学习,成为湖北省第一批接受外国专家培训的实验动物高级管理人员。2000年,在广东省黄韧、湖北省唐利军、湖南省李戎章、河南省王纯耀、海南省白殿卿和广西壮族自治区郭松超等专家的积极推动下,“首届中南实验动物科技交流会”在广州召开,此后形成常态,在六省区轮流召开了19次学术会议,这些会议使中青年实验动物科技队伍得到了快速成长。另外,湖北、广东、江西和上海等创办的实验动物继续教育研讨会也在相关省市轮流召开了很多年。

湖北省实验动物学界学者还相继以学会或个人名义参与了北京、上海等地实验动物科学领域杂志的编委工作,还以学术沙龙、学术讲座和专题报告等方式邀请全国知名的实验动物专家来湖北省指导工作。在省内也以多种形式参与国家重大生物产业基地、国家重大项目、国家重大公共卫生事件的公共服务动物实验技术平台工作,涌现出一批包括吴佳、安学芳、何开勇和赵凌等具有国际水准的实验动物科技骨干人才,展示了湖北省实验动物科技条件的基础性、公益性及战略性支撑作用。

4 小结及展望

40年弹指一挥间,想当年几乎是农舍建筑、破坛乱罐的简陋实验动物条件,到如今是能与国际接轨的实验动物技术平台,这期间国家投入几百亿元,历经几代人的艰辛努力,才取得了中国实验动物科学在生命科学研究领域的历史性成就。尤其在面临今年的新冠肺炎疫情挑战下,我们国家取得的所有应急攻关成果都堪称突飞猛进、举世瞩目。但回顾往昔,不难发现:如果没有这40年的积累,没有全国实验动物学界的共同参与,怎么可能有防疫斗争的胜利?愿新一代实验动物科技工作者继往开来,奋发图强,创造更广阔更美好的未来!

参考文献:

- [1] 魏敏杰,胡继发,唐利军.湖北省实验动物科技发展回顾:1988—2014[M].武汉:湖北科学技术出版社,2014.
- [2] 罗伏根:期颐老人的兽医情缘[EB/OL]. (2018-09-15) [2020-12-15]. <http://my.hzau.edu.cn/info/1081/3882.htm>.
- [3] 刘瑞三.上海实验动物科技事业发展的一些史实[J].上海实验动物科学,2000,20(1):1-2.
- [4] 宗淑杰.现代医学的基石[M].济南:山东科学技术出版社,2001.
- [5] 方喜业.医学实验动物学[M].北京:人民卫生出版社,1995.
- [6] 张崇烈.实验动物洁净室:西德集装箱式SPF动物饲养室简介[J].实验动物科学与管理,1991,8(2):14-18.
- [7] 贺争鸣,李根平,徐平,等.写在《实验动物管理条例》发布实施三十周年[J].实验动物科学,2018,35(4):1-13. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2018.04.001.
- [8] 湖北省科学技术厅.湖北省实验动物管理条例[A/OL]. (2005-07-29) [2020-12-10]. http://www.most.gov.cn/fggw/dffggw/dffghub/200703/t20070321_53638.htm.
- [9] 武汉大学 ABSL-III 实验室[A/OL]. [2020-12-10]. <https://baike.so.com/doc/2119113-2242065.html>.
- [10] 新冠灭活疫苗获批进入临床:中科院武汉病毒所联合国药集团研发[N/OL]. 中国科学报,2020-04-14[2020-12-10]. <http://news.sciencenet.cn/htmlnews/2020/4/438361.shtm>.
- [11] 国产新冠疫苗上市在即,14个疫苗研发进度一览[N/OL]. 澎湃新闻,2020-12-06[2020-12-10]. https://www.thepaper.cn/newsDetail_forward_10285927.

(收稿日期:2020-10-11 修回日期:2020-12-09)



师长宏, 教授, 医学博士, 博士生导师, 空军军医大学(原第四军医大学)实验动物中心主任, 陕西省实验动物质量监督检测中心主任。获全国优秀科技工作者、军队育才银奖和中国实验动物学会青年人才奖。兼任中国实验动物学会常务理事、全军实验动物专业委员会副主任委员、陕西省实验动物学会副理事长。主要从事人源化动物模型研究, 重点围绕肿瘤模型的制备、影像学评估和应用等方向开展研究工作。近 5 年, 以第一作者或通信作者发表 SCI 论文 10 余篇, 刊于 *Cancer Cell*、*Biomaterials* 和 *Nano Research* 等期刊。先后承担国家“863”专项、军队和省重大科技项目 10 余项。获省科技进步二等奖和省教学成果一等奖各 1 项。

陕西省实验动物工作近 10 年发展历程

师长宏^{1,2}, 刘恩岐^{1,3}, 张海^{1,4}

(1. 陕西省实验动物学会, 西安 710061; 2. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710032; 3. 西安交通大学实验动物中心, 西安 710061; 4. 空军军医大学国家分子医学转化中心, 西安 710000)

[关键词] 实验动物; 工作进展; 陕西省

[中图分类号] Q95-33 [文献标志码] B [文章编号] 1674-5817(2021)01-0014-03

Development of Shaanxi Laboratory Animal Science in Past 10 Years

SHI Changhong^{1,2}, LIU Enqi^{1,3}, ZHANG Hai^{1,4}

(1. Shaanxi Laboratory Animal Society, Xi'an 710061, China; 2. Laboratory Animal Center, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Laboratory Animal Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 4. National Molecular Translational Medicine Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710000, China)

[Key words] Laboratory animal; Work progress; Shaanxi Province

实验动物是生命科学研究的基础和重要的支撑条件^[1]。实验动物科学在自身发展壮大的同时, 也为生物医学、药学和兽医学等其他相关学科的研究提供了有力保障, 有效地促进了其他学科的发展^[2]。在陕西省, 大专院校和科研院所数量众多, 生命科学研究和医药产业蓬勃发展, 其中实验动物工作发挥了重要的支撑保障作用, 也创造了国内多个第一。例如, 空军军医大学(原第四军医大学)施新猷教授于 1982 年率先在国内医科院院校开设“医学动物实验方法”课程, 并出版国内第一部《医学动物实验方法》和《比较医学》专著^[3]; 西安交通大学刘恩岐教授率先在国内构建转基因兔品系^[4]。

近年来, 陕西省实验动物工作迈上了新的台阶。本文重点回顾陕西省近 10 年的实验动物工作进展; 这 10 年的进展比较清晰明确, 成绩也比较突出, 特报告如下。

1 实验动物管理的有效性和科学性

为了加强管理, 2001 年由陕西省科技厅牵头成立了陕西省实验动物管理委员会, 办公室设在科技厅条件财务处, 由专人负责实验动物管理, 简称“省动管办”; 2005 年进行了调整; 2020 年根据工作职能变化, 依托省科技厅科技监督与诚信建设处, 成立了新一届陕西省实验动物管理委员会和专家咨询组。实验动物使用单位众多, 为更好地管理实验动物, 省动管办协调省教育厅、省卫生健康委员会、省农业农村厅、省林业局、省市场监督管理局及药品监督管理局等职能部门, 积极参与到实验动物的管理中来, 每年定期举办陕西省实验动物管理会议, 有针对性地对各厅局下属单位的实验动物工作进行直接管理。同时, 为提高实验动物管理的有效性和科学性, 在省动管办的领导下, 专门成立陕西省实验动物专家委员会, 成员有各厅局职能部门的管理

者,更多的则是来自省实验动物工作一线的科技专家。专家委员会不仅有丰富的管理经验,而且有解决实际问题的能力。政府职能部门管理者和实验动物科技专家有机结合,使实验动物管理的有效性和科学性得到进一步加强。

实验动物许可证的发放是管理职能的有效体现^[5]。为保证实验动物生产许可证和使用许可证发放的科学性和规范性,在省动管办的支持下,依托空军军医大学实验动物中心的技术力量,成立了陕西省实验动物质量监督检测中心。申请许可证单位的实验动物和设施经检测中心检测合格后,才有资格领取许可证。动管办、专家委员会及检测中心组成许可证发放的三级管理体系,保证许可证发放的科学性及公正性。

在省动管办的努力下,2011年4月《陕西省实验动物管理办法》以政府令形式对外发布,标志着陕西省实验动物的管理进入法制化时代,该办法的实施使陕西省实验动物管理水平跨入了新的高度。目前已发放生产许可证9个,使用许可证35个,涉及法人单位40多个。

2 实验动物资源特色鲜明

在广大科技人员的努力下,经过多年发展,陕西省已拥有一批特色鲜明的模型动物,资源优势明显。在常规实验动物生产的基础上,西安交通大学实验动物中心成功制作了多个基因修饰家兔。利用转基因家兔模型研究人类心血管疾病、脂质代谢和血管生理等均取得了重要进展^[6],在 *Circulation*、*J Am Soc Nephrol*、*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 和 *Atherosclerosis* 等国际知名杂志上发表了多篇论文,相关的学术论文数量在 Scopus 数据库中排名第六。

空军军医大学实验动物中心采用资源引进和自主研发相结合的方式,创建了30多个人类疾病动物模型,形成100多例不同类型的肿瘤人源异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型,完成100多个品系小鼠的胚胎和精子冷冻、体外受精和生物净化工作;创建了包括小动物活体成像、micro-CT和小动物核磁在内的分子影像平台;建成了服务全省的实验动物种质资源库,实现了实验动物资源的有效共享,先后在 *Cancer Cell*、*Biomaterials* 和 *Nano Research* 等国际知名杂志上发表多篇论文^[7-8]。空军军医大学国家分子

医学转化中心在模式动物研究中特色鲜明,利用基因编辑技术先后构建了几十个基因敲除、敲入的大鼠和小鼠品系,所制备的严重联合免疫缺陷小鼠为人源化实验动物研究奠定了良好的基础^[9]。

陕西省中医药研究院实验动物中心培育了 CHN/1、CHN/2、CHN/3 和 CHN/4 共4个近交系大鼠新品系,经中国食品药品检定研究院按照 GB 14923—2010 和 GB/T 14927.1—2008 检验,均符合近交系大鼠遗传生化标记检测标准,遗传质量合格。为提升全省实验动物科研水平,从2019年开始,陕西省科技厅每年设立实验动物专项经费,持续支持实验动物研究课题。经过多年发展,陕西省实验动物已形成了以模式动物、PDX 模型、近交系大鼠为代表的资源优势。

3 学科优势明显,人才培养体系更加完善

经过多年发展,陕西省从2010年开始已形成了以西安交通大学实验动物中心、空军军医大学(原第四军医大学)实验动物中心为代表的,在国内有一定影响力的实验动物学学科,可授予博士和硕士学位,产生了一批在国内有较高知名度的专家学者。

持续、优质的人才资源是实验动物事业发展的先决条件。从实验动物管理的角度考虑,我国对实验动物从业人员实行上岗培训制度,只有取得上岗证的人员才能进行相关工作。陕西省每年都要进行实验动物从业人员培训,培训合格后颁发上岗证。2010年陕西省刚进行上岗培训时只有100余人参加,2016年后实验动物培训人数每年超过300余人,人员不仅包括院校、研究所的科技人员,而且有医院、制药企业等单位人员参加。培训中不仅有专业知识授课,也有实验动物政策法规的解读,更重要的是加强对年轻从业人员爱岗敬业的培训,增强年轻人对实验动物事业的责任心和荣誉感。

在省科技厅的支持下,2013年成立的陕西省实验动物学会,成为连接省动管办与广大实验动物科技人员的桥梁。学会不仅发挥学术团体的作用,对从业人员进行培训,指导从业人员科学地进行实验,同时也把政府部门颁布的相关政策及时传达给广大从业人员。为了提高实验动物专业人员的积极性,促进陕西省实验动物科学的发展,省科技厅每年在科技计划中设立实验动物专项,鼓励

大家积极开展实验动物研究工作。

为了提高实验动物从业人员的专业技能,从2016年起,陕西省每年举办实验动物从业人员技能大赛。大赛可自愿报名,选手现场进行动物实验操作,专家打分后选出优胜者。目前该项比赛已连续举办五届,既显示了我省实验动物从业人员的动物实验专业技能,又增进了学术交流。从2018年开始,还联合西部甘肃、青海、宁夏、重庆等省市举办了“丝路杯”实验动物专业技能大赛。多种措施的贯彻落实使陕西省实验动物从业人员人才培养体系更加完善。

4 实验动物产业朝气蓬勃

在省动管办指导,以及实验动物专家委员会的扶持下,经过多年发展,陕西省实验动物行业产生了一批在国内知名度高、产值高的高新技术企业。目前,陕西省实验动物产业链范围广泛,不仅包括实验动物生产、设施建设和设备制造,也包括为药品、保健品进行安全性评价的CRO(contract research organization)服务公司。

在实验动物生产方面,陕西省不仅可为全国用户提供标准化大小鼠,而且企业生产的新西兰兔、比格犬等实验动物在国内享有较高知名度,部分实验动物还出口到韩国。在实验动物设施设备的制造方面,陕西省早期就扶持了专业空气净化公司进行实验动物设施建设与改造,生产的实验动物净化设备及饲养设备质量高,享有多个国家专利。近年来,陕西省出现了4家可为药品、保健品安全性和有效性评价提供技术外包服务的CRO公司,两家单位通过了GLP(good laboratory practice)认证,为陕西省医药行业质量提升提供了一定的技术支持。

5 服务支撑作用

陕西省实验动物科技产业在自身发展壮大的同时,积极为其他学科建设服务。一方面为使用单位提供标准化实验动物,保证实验结果的可靠性和稳定性;另一方面可为相关单位提供动物实验服务,提升动物实验质量和技术含量。据不完全统计,陕西省每年获得的生物医药类省部级奖项中75%以上都离不开实验动物做出的贡献。省实验动物质量监督检测中心每年为相关单位的实验动物设施进行环境质量检测,有效保障了实验

动物及动物实验的质量。

药品质量关乎人类健康,陕西省制药企业有200余家,生产的药品需要通过实验动物进行安全性评价。省内实验动物相关单位发挥技术优势,积极为医药企业提供服务,每年为全省提供技术服务3000余批次,有效地保障了药品质量。

6 小结

实验动物行业虽小,但覆盖面宽。在实验动物管理者和科技人员的共同努力下,陕西省实验动物工作已进入良性发展轨道。从实验动物管理,到实验动物生产和使用,均严格按照国家标准进行。经过多年发展,陕西省实验动物工作已形成了以动物生产供应和动物实验技术服务为特色的新格局,实验动物人才梯队建设不断完善,相关条件持续提升,保障了其他学科的有序发展。

致谢: 陕西省实验动物学会赵四海教授和姚养正研究员为本文的撰写提供了帮助,顺致谢忱!

参考文献:

- [1] 周正宇. 针对生物医学类研究生实验动物学教学的思考[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6):537-539. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.06.014.
- [2] 张玲, 李丽, 王宏军, 等. 基于动物医学实验平台的设计性实验教学研究[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(8):118-119.
- [3] 中国实验动物学会. 深切怀念施新猷教授[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(12):125. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2017.12.022.
- [4] 刘恩岐, 范江霖. 转基因兔在动脉粥样硬化研究中的应用及其进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11(4):371-375. DOI:10.3969/j.issn.1007-3949.2003.04.028.
- [5] 李会萍, 王小明, 杨锦淳, 等. 2018年我国实验动物许可证管理的现状及分析[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(7):131-136. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.07.022.
- [6] 中国实验动物学会. 2014—2015 实验动物学学科发展报告[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2016.
- [7] WU J B, YIN L, SHI C, et al. MAOA-dependent activation of shh-IL6-RANKL signaling network promotes prostate cancer metastasis by engaging tumor-stromal cell interactions[J]. Cancer Cell, 2017, 31(3):368-382. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.02.003.
- [8] WU J B, SHI C H, CHU G C Y, et al. Near-infrared fluorescence heptamethine carbocyanine dyes mediate imaging and targeted drug delivery for human brain tumor[J]. Biomaterials, 2015, 67:1-10. DOI:10.1016/j.biomaterials.2015.07.028.
- [9] ZHAO Y, LIU P, XIN Z, et al. Biological characteristics of severe combined immunodeficient mice produced by CRISPR/Cas9-mediated Rag2 and IL2rg mutation[J]. Front Genet, 2019, 10:401. DOI:10.3389/fgene.2019.00401.

(收稿日期: 2020-12-30 修回日期: 2021-01-19)

《实验动物与比较医学》创刊 40 年重要文献回顾

高 诚^{1,2,3}

(1. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 2. 上海市实验动物学会, 上海 200025; 3. 《实验动物与比较医学》编辑部, 上海 201203)

[关键词] 实验动物; 比较医学; 文献回顾; 创刊 40 年

[中图分类号] Q95-33 [文献标志码] B [文章编号] 1674-5817(2021)01-0017-10

Important Literature Review for the 40th Anniversary of *Laboratory Animal and Comparative Medicine*

GAO Cheng^{1,2,3}

(1. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Laboratory Animal Science Association, Shanghai 200025, China; 3. Editorial Office of Laboratory Animal and Comparative Medicine, Shanghai 201203, China)

[Key words] Laboratory animal; Comparative medicine; Literature review; 40th Anniversary

岁月荏苒, 白驹过隙。2021 年是《实验动物与比较医学》创刊 40 周年。作为我国第一本实验动物科学专业杂志, 本刊自创刊以来, 一直受到业内专家们的关注和呵护, 每有重大事件或逢重要时段, 皆有前辈们撰文寄语^[1-10]。

《实验动物与比较医学》杂志创刊于改革开放初期的 1981 年, 当时以《上海畜牧兽医通讯·上海实验动物科学专辑》的形式内部发行; 1983 年 12 月经上海市科委批准, 从 1984 年第 1 期起更名为《上海实验动物科学》, 并独立内部发行; 1986 年 1 月杂志挂靠上海实验动物研究中心, 并组建编辑部; 1987 年 9 月由上海市新闻出版局批准公开发行; 2003 年开本改为大 16 开; 2005 年 5 月经国家新闻出版总署批准更名为《实验动物与比较医学》。截至 2020 年第 6 期, 杂志共出版 184 期, 发表文稿 3 500 余篇, 总计 12 600 余页, 2 220 余万字; 发行约 25 万余册 (含赠送)。

在改革开放初期, 我国实验动物科学整体水平与国外差距极大。当国内还在用陶土瓦罐饲养小鼠时, 发达国家已有技术成熟的无菌隔离、屏障环境和高质量的悉生动物及无特定病原体 (specific pathogen-free, SPF) 动物, 并开展了一系列的人类疾病模型和比较医学研究; 国外使用的设施设备有隔离器、屏障环境、半屏障

(part barrier) 环境、层流架等, 且商业化程度较高。从 20 世纪 80 年代至今, 我国实验动物科学 40 年的发展可谓日新月异、成就显著, 到目前几乎与国际接轨, 甚至在某些领域达到了国际先进水平。因此, 通过回顾本刊 40 年的重点论文, 可管中窥豹, 借此了解中国实验动物科学 40 年发展的点滴轨迹和成就。

本文主要整理了《实验动物与比较医学》创刊以来一些具有创新性、原创性, 对推进我国实验动物科学技术发展发挥一定作用的代表性论文, 对于一些技术、方法等稍作改进或补充完善而非原创的论文不做赘述。

1 无菌和高等级实验动物

1984 年, 张荫槐等^[11]首次报告了在全无菌隔离器内人工饲养剖宫产豚鼠的方法; 结果显示, 尽管豚鼠仅饲养至断奶期后的 25 日龄, 经剖宫产获得的 17 只幼豚鼠存活了 10 只 (存活率 58.82%), 但该研究解决了两个关键问题, 即人工饲养和无菌环境的维持。同年, 王荫槐等^[12]报告了经剖宫产无菌仔兔的人工哺育情况, 显示无菌仔兔用经高压灭菌人工乳, 以自动 (虹吸作用) 哺乳法哺育至 30 d, 成活率达 92% (23/25)。随后的 1985 年, 孙淑华等^[13]比较了隔离器内饲养的已知

菌兔（2窝兔所带细菌种类共7或9种）与普通级兔的部分器官的解剖学情况。1985年，王汉荣等^[14]报告了无菌小鼠的微生物质量控制情况，详细介绍了从日本引进的无菌ICR小鼠经过一年半建立种群、微生物控制和隔离器无菌环境监控的结果，文章比较详细地讨论了污染原因和对策。1986年，朱美芬等^[15]发表了无菌小鼠细菌学监测方法和结果，论及无菌小鼠质量、环境因素的影响、培养基和培养方法的选择，培养方法分为需氧和厌氧，培养温度为25℃、37℃和58℃。1989年，马东林等^[16]检测了普通级、清洁级BALB/c小鼠和普通级、清洁级和无菌级SSB（即上生白系）小鼠的血液生理生化值，比较了普通级、清洁级SSB小鼠血清IgA、IgG和IgM含量。同年，陈天培^[17]回顾总结了1970年代以来，国内外大鼠、小鼠病原体等级品质监控的要求和意义，内容详尽全面，至今仍有参考价值。2012年，吴艳秋等^[18]比较了无菌级和SPF级3个年龄段的C3H小鼠部分生物学和血液指标检测结果，包括小鼠体质量、脏器质量、15项血常规指标和19项血液生化指标。

1991年，舒家模等^[19]介绍了以剖宫产经药液桶传递入大型隔离器内培育无菌犬的改良剖宫产技术，通过该技术可以保存种母犬并获得无菌仔犬。1993年，赵军等^[20]从普通大鼠分离、培养、纯化了5种细菌，接种于无菌大鼠，建立两代五联菌悉生大鼠，并对其肠道黏膜微生态进行分析。2006年，戴方伟等^[21]比较了国内外无菌动物检查的现状，分析了动物无菌检查中的影响因素，但限于当时条件，没有提及和讨论宏基因组方法对无菌动物和无菌环境的检测。2003年，薛家宾等^[22]以隔离器无菌剖宫产并经人工培育，在屏障环境内建立了SPF兔种群。

高质量的实验动物离不开相应的设施和设备。1982年，张素胤等^[23]建立了有流程图的SPF动物室，并培育了免疫缺陷的裸鼠，这是我国首次报告裸鼠群的建立。1983年，罗帧美等^[24]介绍了一种简易的、基本符合要求的SPF实验动物饲养环境。1991年，邹勇等^[25]通过剖宫取胎和药浴保姆豚鼠、人工代乳的方法，在隔离器及屏障环境设施内建立符合卫生部标准的清洁级豚

鼠种群（当时没有国家标准）。2005年，夏放等^[26]经剖宫产以代乳的方式，在隔离器建群，再移至屏障系统大规模生产SPF仓鼠。

从本节回顾内容可以了解改革开放初期至2012年，我国科学家在实验动物微生物质量研究、控制方面的创新性工作，其中不乏填补国内空白的技术手段，结合材料应用、团队协作，快速提高了我国实验动物的质量。

2 野生动物的实验动物化

发表于本刊的野生动物实验动物化论文很多，仅动物种类就达12种之多。限于篇幅，本节仅就一些重要的野生动物实验动物化过程进行简述。

2.1 狨猴

1985年，陈天培等^[27]对引自日本的普通狨猴（*Callithrix jacchus*）饲养管理情况进行观察和总结，包括习性观察和质量控制；随后1986年发表了涉及基本实验操作、血液学检查和肝穿刺活检的3篇系列文章。1988年，峰晓尉^[28]报告了从美国Wisconsin大学引入的棉顶狨猴（*Saguinus oedipus oedipus*）繁殖成功。1989年，余家璜等^[29]对原产于秘鲁、从美国转口引入的髭狨猴（*Saguinus mystax*）的饲养环境、病原体监控、饲料和生活习性进行了观察。1992年和1995年，梁梧生等^[30-31]介绍了英国Bristol大学惠赠的棉顶狨猴的饲养与繁殖经验，并观察了其育婴行为。1995年，王胜昌等^[32]比较了普通狨猴和棉顶狨猴中血红蛋白和血清乳酸脱氢酶同工酶含量。1995年，朱钟麟等^[33]观察了普通狨猴牙齿生长与年龄的关系。2014年，李萌乾等^[34]探讨了引自南非的普通狨猴部分传染性疾病的检疫指标。

2.2 仓鼠、沙鼠和小家鼠

1994年，焦克卿等^[35]在驯育黑线仓鼠（*Cricetulus barabensis griseus*）时建立了白化种群，并对其生长发育进行观察，包括行为发育、脏器系数等生物学特性。2013年，李爱学等^[36]构建了黑线仓鼠白化突变系抑制差减cDNA文库，并进行了初步分析。另外，2011年，黄珍祯等^[37]对黑线毛足仓鼠（*Phodopus sungorus*）的生长繁育、血液生化和脏器质量等指标进行了测定。

1999年，廖力夫等^[38]对子午沙鼠叶氏亚种

(*Meriones meridianus jei*) 和灰仓鼠 (*Cricetulus migratorius*) 在人工控制温度、光照条件下进行了繁殖实验, 发现增加光照和温控可以促进繁殖, 加速驯化。2009 年, 王洪等^[39]对 8 周龄清洁级灰仓鼠的 22 项血液生理指标、12 项血液生化指标和脏器系数进行了测定。同年, 高正琴等^[40]对 41 只灰仓鼠气管和回盲部细菌进行了分离鉴定, 主要分离出埃希菌属、假单胞菌属、葡萄球菌属、巴斯德菌属和芽孢杆菌属的细菌, 并对这些细菌做了药物敏感性试验。2011 年, 侯岩岩等^[41]在独立通气笼盒 (individual ventilated cages, IVC) 系统以药物净化的灰仓鼠代母乳饲喂剖宫产仔鼠, 并测定了仔鼠生长发育指标。同年, 侯岩岩等^[42]还比较了普通级和清洁级灰仓鼠的 18 项血液学及 7 项血液生化指标。

2012 年, 付瑞等^[43]以 SPF 兔制备了抗树鼩 (*Tupaia belangeri*)、灰仓鼠 (*Cricetulus migratorius*) 和长爪沙鼠 (*Meriones longicaudatus*) IgG 抗体, 并分别用异硫氰酸荧光素和辣根过氧化物酶进行标记, 为血清学质量控制奠定了基础。2016 年, 廖力夫等^[44]观察了子午沙鼠叶氏亚种在实验室饲养时生长发育的情况。2017 年, 徐艺玫等^[45]测定了 2 个亚种的子午沙鼠尿液中 13 个生化指标。

1993 年, 王春燕等^[46]介绍了与日本国立遗传学研究所合作的中国西部地区野生小鼠遗传学调查进展。1996 年, 张瑞忠等^[47]调查了我国全部 7 个动物地理区小家鼠 (*Mus musculus*) 的血红蛋白 β 链 (hemoglobin beta-chain, Hbb) 多态性分布情况。

2.3 鼠兔

鼠兔属 (*Ochotona* spp.) 约有 30 种鼠兔。1986 年, 徐植岚等^[48]介绍了达乌尔鼠兔 (*Ochotona daurica*) 的驯育情况, 16 个月繁殖 3 代 72 只, 并观察了其驯养、繁殖和生活习性。1987 年, 陆开祥等^[49]介绍了捕自青海的高山鼠兔 (*Ochotona alpina*) 在上海人工驯养和用于吗啡、杜冷丁实验的体会。1993 年, 鲍世民等^[50]对捕自青海 (海拔 3600 m) 的 67 只高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 在上海地区进行了驯育, 但未能建立新种群。1994 年, 叶润蓉等^[51]报告了高原鼠兔主要脏器质

量和系数并与相关文献做了比较。1995 年, 张瑞忠等^[52]测定了高原鼠兔心、肝、肾和骨骼肌中乳酸脱氢酶同工酶的含量。1997 年, 赵建文等^[53]测定了高原鼠兔耗氧量、心率、肺通气功能和平均动脉压, 以及 11 个血液生化指标。

2.4 旱獭

喜马拉雅旱獭 (*Marmota himalayana*) 是研究人类乙肝的理想模型动物。2011 年, 范微等^[54]建立了喜马拉雅旱獭活体肝穿刺术。2012 年, 王忠东^[55]根据喜马拉雅旱獭的生物学特性和实验需要, 兼顾动物福利, 改进了笼具, 取得了较好的效果, 成活率达 90% 以上。同年, 张评浒等^[56]对喜马拉雅旱獭 mtDNA 的 cytb 全基因进行了初步研究, 以期从分子水平分析喜马拉雅旱獭在旱獭属中的系统分类地位, 以及与北美旱獭的亲缘关系; 结果发现, 从遗传距离来看, 我国 4 种旱獭中与北美旱獭 (*Marmota monax*) 最近的是喜马拉雅旱獭。2015 年, 陶元清^[57]参照实验动物环境和实验动物笼器具的规范要求, 设计了喜马拉雅旱獭的繁殖设施并实际应用, 获得了 30% 的繁殖率。同年, 刘海青等^[58]对白化喜马拉雅旱獭自然感染体外寄生虫进行了监测, 并以伊维菌素注射液驱虫后做了净化效果评价。另外, 2015 年薛康宁等^[59]探讨了美洲旱獭甲型肝炎病毒感染实验中涉及到的饲养管理及实验技术, 包括风险评估和安死术等。

2.5 东方田鼠

东方田鼠 (*Microtus fortis*) 的实验动物化历经时间长达 20 余年, 并获得国家和地方科技部门的资助。1991 年, 朱国正等^[60]报告了东方田鼠实验室饲养和先天抗血吸虫病的特性, 包括东方田鼠在中国的分布情况和实验室饲养特性, 野生和实验室繁殖第二代东方田鼠即使人工感染血吸虫均没有检测到成虫。1994 年, 鲍世民等^[61]分析比较了来源于湖南岳阳洞庭湖的东方田鼠血清、红细胞、骨髓、肝和肾的乳酸脱氢酶同工酶谱、相对活力和亚基相对含量。1995 年, 沈志明等^[62]对东方田鼠进行了 2 年的实验室驯育与繁殖, 并初获成功。随后, 邵伟娟等^[63]和潘漪清等^[64]分别测定了东方田鼠血液和血清生化指标。1999 年, 刘宗传等^[65]报告了东方田鼠颗粒饲料的

研制情况, 并进行了初步应用, 效果较好。

1996年, 国家科技部将东方田鼠实验动物化和抗血吸虫病机制研究列为“九五”攻关项目。2000年, 刘宗传等^[66]对实验室驯养和繁殖的10只东方田鼠按卫生部标准进行了微生物和寄生虫检测。同年, 高诚等^[67]对捕自宁夏青铜峡地区的38只东方田鼠和洞庭湖地区的142只东方田鼠, 按照国家标准的SPF等级进行了微生物和寄生虫检测。2006年, 柏熊等^[68]对东方田鼠长江中下游亚种(*M.f. calamorum*)洞庭湖种群、指名亚种(*M.f. fortis*)青铜峡种群和东北亚种(*M.f. pelliceus*)金山屯种群进行了实验室人工繁育, 获得良好的效果; 并且在饲养过程中发现, 捕自黑龙江伊春市金山屯的东北亚种有体型大小差异。

2008年, 谢建云等^[69]对4个种群的东方田鼠线粒体DNA D-loop多态性进行了深入分析。2009年, 魏晓锋等^[70]测定了野生和人工饲养20代的东方田鼠部分血液和血清生化指标。2012年, 姜宪环等^[71]用LA-PCR方法克隆了东方田鼠的部分Y染色体, 并进行了测序。2013年, 高骏等^[72]测定了东方田鼠指名亚种线粒体全序列, 并进行了系统进化分析。同年, 邵国艳等^[73]总结了20余年东方田鼠抗日本血吸虫病相关的免疫学研究进展。2018年, 柏熊等^[74]观察了饲育20年、经生物净化后两个地区的东方田鼠种群生长发育和繁殖性能。同年, 柴淑梅等^[75]综述了东方田鼠在医学生物学研究与应用方面的进展。

2.6 树鼩

1993年周顺长等^[76]观察了18月龄、雌雄各20只、以笼养和圈养方式人工饲养的树鼩(*Tupaia belangeri*), 讨论了环境要求、食性、习性和幼树鼩生长发育的形态学特点。同年, 周顺长等^[77]介绍了树鼩中枢神经系统的一些大体解剖学和细胞学特点, 并与其他动物做了比较。1998年, 班克臣等^[78]介绍了针对树鼩的一种肝脏活检、麻醉和取血技术。苏秋香等^[79]对树鼩卵巢、输卵管的大体解剖和显微结构做了观察, 并对卵巢超微结构进行电镜观察。2004年, 岳惠芬等^[80]对树鼩超数排卵激素的组合和剂量进行了初步探讨。2008年, 钱玉婧等^[81]采用两种方法

对仔树鼩进行人工哺乳, 获得成功, 为树鼩大规模繁育和建立无菌种群奠定了基础。2009年, 陈丽玲等^[82]比较了乙醚和速眠新对树鼩的麻醉效果, 并认为后者较好。2010年, 刘汝文等^[83]探讨了昆明地区4个季节、12个参数的树鼩驯养环境条件, 以及涉及动物福利的食槽、饮水和垫料等因素。

2011年, 角建林等^[84]通过对比野生、实验室驯养和繁殖树鼩的消化管长度、血液生理和生化指标, 初步优选出符合树鼩营养要求的颗粒饲料。同年, 李波等^[85]观察了树鼩断尾后运动和生长发育的变化, 结果显示断尾对实验室驯养和生长发育没有明显影响, 但断尾树鼩的腓肠肌张力明显小于对照组。2012年, 陈丽玲等^[86]比较了树鼩与大鼠、小鼠的排尿、排粪时间和消化管长度。同年, 付瑞等^[43]通过亲和层析法制备纯化了兔抗树鼩、灰仓鼠和长爪沙鼠IgG抗体, 并分别用异硫氰酸荧光素和辣根过氧化物酶进行标记。

2014年, 徐文滢等^[87]对大鼠、小鼠、兔、犬、猕猴和树鼩(4月龄~1岁)等6种实验动物的主要消化腺组织进行了较为详尽的比较研究。2016年, 匡德宣等^[88]对1~6岁驯养繁殖树鼩的主要消化腺进行了组织学观察。同年, 宋庆凯等^[89]对野生和人工繁育患有腹泻的树鼩肠道阿米巴原虫进行了显微镜检查和ELISA抗原、抗体筛查, 但没有对虫种进行鉴定。2017年, 王东宝等^[90]以树鼩为动物模型, 将甲型肝炎减毒活疫苗(hepatitis A virus attenuated live vaccine, HepA-1)、乙型肝炎疫苗(hepatitis B vaccine, Hbv)单独或分别与佐剂硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)联合, 通过皮下及肌肉注射两种方式对树鼩进行免疫, 观察树鼩对疫苗应答, 以及疫苗与佐剂联用对体液免疫应答的影响, 为树鼩作为动物模型进行疫苗免疫或药物评价提供了免疫学指标。

2017年, 苗雨润等^[91]成功进行了树鼩的角膜原代上皮细胞培养、纯化和鉴定, 发现传至25代以后细胞活力下降。同年, 杨冬梅等^[92]建立了树鼩形觉剥夺性近视模型, 测量了眼球屈光度, 并观察了视网膜厚度和各层细胞形态学变化。而且, 苗雨润等^[93]体外诱导了树鼩骨髓间充质干细胞, 发现优化后的诱导培养液具有较高的诱导效

率（高于 50 %），且绝大部分可分化为神经元样细胞。2018 年，刘城秀等^[4]分析了封闭群 I ~ IV 代树鼩的微卫星遗传特性，认为树鼩的遗传多样性较丰富，且不存在较大的遗传差异和分化程度。2019 年，贾杰等^[95]在病毒性肝炎、视觉疾病、神经系统疾病、肿瘤、代谢性疾病等 5 个方面阐述了应用树鼩研究的优势，以及所面临的 3 个方面的挑战。王璇等^[96]从出生 1~2 d 的树鼩脊髓分离鉴定了星形胶质细胞，并认为培养 3~4 d 的细胞活力最强。

继树鼩的原代肝细胞、肝枯否细胞（Kupffer cells）、海马神经干细胞、脑星形胶质细胞、淋巴细胞、角膜上皮细胞和骨髓间充质干细胞等成功分离培养和应用后，2019 年王文广等^[97]成功分离、鉴定和传代培养了树鼩肺成纤维细胞；李明学等^[98]成功去除其他杂细胞，获得纯化的源自树鼩大脑皮层的少突胶质前体细胞；王文广等^[99]还从树鼩脑和脊髓克隆并分析了主要促进因子超家族结构域蛋白 2a（major facilitator superfamily domain-containing protein 2a, *Mfsd2a*）基因，同时对不同组织的 *Mfsd2a* 基因表达量进行了检测，结果显示 *Mfsd2a* 基因在树鼩的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉、大脑和脊髓中均有表达，其中在大脑和脊髓中的表达量相对较高。2020 年，李晓飞等^[100]采用 cDNA 末端快速克隆技术获得树鼩连接黏附分子 A 的基因全长编码序列，并对其序列和分子特征进行分析，为了解呼肠孤病毒和宿主之间的相互作用关系提供了基础资料。

2.7 长爪沙鼠

1989 年，聂金荣等^[101]报告了 1978 年捕自内蒙古的野生长爪沙鼠在实验室的饲养管理和繁殖情况。1995 年，聂金荣等^[102]又详细观察了 50 对长爪沙鼠的生存和繁殖行为。同年，张继恩等^[103]在亚屏障系统中建立了清洁级长爪沙鼠生产群。1998 年，聂金荣等^[104]详细观察了长爪沙鼠、金黄仓鼠和 SD 大鼠脑底动脉的比较解剖学特点，并配有比较图谱，认为长爪沙鼠是理想的脑缺血模型动物。2000 年，张继恩^[105]对 240 对清洁级长爪沙鼠的繁殖性能进行了观察，发现初次配对雄鼠常被咬致死。2005 年，萨晓婴等^[106]尝试用 DNA 指纹技术分析长爪沙鼠的遗传质量，

结果显示所有个体间的相似系数达 95%。2006 年，刘月环等^[107]初步分析了长爪沙鼠 11 个生化基因位点的多态性。2008 年，刘月环等^[108]克隆并鉴定了长爪沙鼠的 β - 防御素基因，并认为其与大鼠更为接近； β - 防御素主要分布于黏膜上皮，包括肠管、气管、舌、肾、口腔和鼻腔黏膜等。同年，刘月环等^[109]还克隆了长爪沙鼠的载脂蛋白 E4 基因的外显子；载脂蛋白 E 与脂类代谢密切相关，而长爪沙鼠是研究脂类代谢的理想动物模型。

长爪沙鼠对小鼠肝炎病毒易感。为实施对长爪沙鼠的质量控制，2013 年卫礼等^[110]建立了长爪沙鼠中小鼠肝炎病毒抗体的 ELISA 检测方法，并进行了特异性、稳定性和灵敏性实验，且与间接荧光免疫实验进行比较，尝试了初步应用。2015 年，王吉等^[111]建立了长爪沙鼠淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒抗体的 ELISA 检测方法。2014 年，刘月环等^[112]建立了血清蛋白电泳技术和肠道微生物的变性梯度凝胶电泳（denatured gradient gel electrophoresis, DGGE）检测技术，对低龄组和高龄组的 444 只长爪沙鼠进行了初步的高血脂评价。2017 年，李银银等^[113]对糖尿病沙鼠和正常沙鼠的肾脏、肝脏、骨骼肌、脑和心脏 5 种器官组织中 ND3 mRNA 和蛋白水平的表达情况进行了分析。同年，王存龙等^[114]初步建立了雌二醇诱导的雄性长爪沙鼠乳腺增生模型。2018 年，王志远等^[115]以高脂饲料饲喂长爪沙鼠 4 周，然后观察肝脏组织形态，检测血液生化指标和肝脏基因组 DNA 甲基化水平，发现甲基化水平由高到低分别是高脂饲料诱导的青年模型组鼠 > 新生仔鼠 > 中老龄鼠 > 青年对照组鼠，但该研究中样本数较少。同年，李迎等^[116]测定了普通级近交系长爪沙鼠的血液生理生化指标。

2.8 裸鼯鼠

裸鼯鼠的实验动物化始于 2011 年。本刊于 2013 年发表了孙伟等^[117]报告的引进 10 对裸鼯鼠人工饲养二年的繁育结果，该文讨论了繁殖、管理、记录和环境设施要求、卫生等情况。同年，林丽芳等^[118]初步比较了裸鼯鼠与 C57BL/6 小鼠的自噬调节；袁子彦等^[119-121]观察了裸鼯鼠肝、肺、心、肾的显微结构与超微结构，发现裸鼯鼠肺脏呈支气管扩张和肺不张，肝细胞中有较多

溶酶体、自噬体等细胞器,线粒体几乎占据了大部分心肌细胞;张璐等^[122]比较了裸鼯鼠与C57BL/6J小鼠肾脏组织结构及超微结构;赵善民等^[123]初步观察了裸鼯鼠胸腺、脾脏和淋巴结的解剖学、组织学与超微结构。2014年,肖邦等^[124]分析了裸鼯鼠肺、肝和脑组织中HIF-1 α 、VEGFb、FLT-1、FLT-3、Fiz1、NKRf这6个低氧相关基因的表达,发现不同基因在不同组织中有不同的表达。同年,赵善民等^[125]比较了常氧条件与低氧条件下裸鼯鼠皮肤成纤维细胞自噬水平和细胞凋亡率;林丽芳等^[126]通过多聚肌苷-多聚胞苷酸(polyinosinic polycytidylic acid, PolyI:C)(一种免疫抑制剂)给药,检测了裸鼯鼠小肠炎性反应及自噬水平;林丽芳等^[127]还检测了裸鼯鼠外周血中白细胞免疫相关因子IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12、TNF- α 、IFN- γ 的mRNA表达水平;肖邦等^[128]用PolyI:C腹腔注射裸鼯鼠,结果显示肺和肠管均无明显的病理变化,但该研究无其他动物作对照;赵善民等^[129]检测了裸鼯鼠肝脏、肺脏和肠道组织中的p53蛋白表达,并与C57BL/6J小鼠进行了比较。

2016年,肖邦等^[130]比较了不同浓度CoCl₂化合物对裸鼯鼠和C57BL/6J小鼠肝星形细胞增殖活性及凋亡率的影响。同年,程继帅等^[131]分离培养并鉴定了裸鼯鼠骨髓巨噬细胞。林丽芳等^[132]采用通用荧光引物筛选了5个裸鼯鼠微卫星位点。2017年,程继帅等^[133]分离纯化了裸鼯鼠血清IgG、IgA和IgM,并测定了其含量。2019年,杨文静等^[134]建立了妊娠60~65d的胎裸鼯鼠海马神经元细胞体外培养体系,并观察了细胞对低氧的耐受能力和轴突生长情况。同年,林丽芳等^[135]比较了PolyI:C刺激对裸鼯鼠和小鼠巨噬细胞中双链RNA活化的蛋白激酶(double-stranded RNA activated protein kinase, PKR)信号通路的影响,结果显示PolyI:C能抑制小鼠的PKR活性,而裸鼯鼠则相反,其PKR活性被显著激活。陈超等^[136-137]比较了裸鼯鼠和3个品系小鼠抗辐射和抗两种化学诱癌剂(乌拉坦和亚胺基偶氮甲苯)的能力,结果显示裸鼯鼠较小鼠有更强的抗辐射和抗癌能力。2020年,冯延等^[138]分离、鉴定了裸鼯鼠皮肤成纤维细胞的外泌体。同年,杨蓉

等^[139]和张静远等^[140]观察了⁶⁰Co γ 射线辐射对裸鼯鼠脾脏、肾脏、肺脏和骨骼肌的影响;张成财等^[141]观察了脂多糖腹腔注射对裸鼯鼠肺脏的影响,但尚无其他动物作对照。

(待续)

致谢: 同事张俊彦、富群华和王伟民提供了杂志的总目录和相关论文资料,周光兴教授审阅了本稿并提出宝贵意见,谨致谢意。

参考文献:

- [1] 邓翀. 回顾与展望[J]. 上海实验动物科学, 1988, 8(1):1.
- [2] 钟品仁, 孙靖. 热烈祝贺《上海实验动物科学》公开发行[J]. 上海实验动物科学, 1988, 8(1):2.
- [3] 刘瑞三. 贺实验动物科学事业壮大发展[J]. 上海实验动物科学, 1988, 8(1):3.
- [4] 邓翀. 上海市畜牧兽医学实验动物科学研究会工作回顾与展望[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(1):1-3.
- [5] 漆晔生. 回顾、反思与期望: 纪念《上海实验动物科学》创刊20周年[J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(3):133-136. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2001.03.002.
- [6] 刘瑞三. 上海实验动物科技事业发展的一些史实(纪念本刊创刊20周年)[J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(1):1-2.
- [7] 刘瑞三. 抚前瞻后, 大力发展我国比较医学: 写于本刊更名之际[J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(2):67-68. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2005.02.001.
- [8] 漆晔生. 千里始足下, 高山起微尘: 办刊30周年纪念声中忆创刊[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(5):313-318. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.05.001.
- [9] 尹松林. 继往开来, 前程似锦: 祝贺上海市实验动物学会成立十周年、杂志创刊三十周年[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(5):319-320, 337. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.05.002.
- [10] 高诚. 任重道远: 写在《实验动物与比较医学》创刊30周年之际[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(5):321. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.05.003.
- [11] 张荫槐, 王安京, 初光达, 等. 无菌隔离器内人工饲养剖腹产仔豚鼠方法初探[J]. 上海实验动物科学, 1984, 4(1):17-19.
- [12] 王荫槐, 孙淑华, 王安京, 等. 剖腹产无菌仔兔的人工哺育[J]. 上海实验动物科学, 1984, 4(2):92-95.
- [13] 孙淑华, 王荫槐, 王安京, 等. 已知菌兔与普通兔部分器官的解剖学比较[J]. 上海实验动物科学, 1985, 5(3):147-149.

- [14] 王汉荣, 周玮, 陆志刚, 等. 无菌小鼠的微生物质量监控[J]. 上海实验动物科学, 1985, 5(2):73-75.
- [15] 朱美芬, 皇甫在, 陈天培, 等. 无菌小鼠细菌学监测方法及其结果[J]. 上海实验动物科学, 1986, 6(2):72-74.
- [16] 马东林, 邹勇, 周玮, 等. 各级生物学净化小鼠生理生化数值的检测[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(1):47-48, 52.
- [17] 陈天培. 实验动物微生物学品质监控的要求和意义[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(2):92-99.
- [18] 吴艳秋, 王俊凤, 施美莲, 等. GF级和SPF级C3H/orlSlac小鼠部分生物学和血液指标的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(1):64-69. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.01.016.
- [19] 舒家模, 蔡建群, 徐瑞玲, 等. 培育无菌级犬的改良剖腹产技术[J]. 上海实验动物科学, 1991, 11(1):24-25.
- [20] 赵军, 黎洁良, 施志国, 等. 两代五联悉生大鼠培育及其肠道粘膜微生态分析[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(2):65-68.
- [21] 戴方伟, 周莎桑, 柯贤福, 等. 国内无菌动物无菌检查的现状与分析[J]. 实验动物与比较医学, 2006, 26(4):261-264. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2006.04.017.
- [22] 薛家宾, 徐为中, 诸玉梅, 等. 实验兔生物净化初报[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(3):174-175. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2003.03.014.
- [23] 张素胤, 陆志祥, 陈鸿书, 等. SPF动物室建立与裸鼠培育[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1982, 2(2):70-72.
- [24] 罗祯美, 渠川政, 陈世平, 等. 简易SPF实验动物饲育环境的建立[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1983, 3(2):97-98.
- [25] 邹勇, 李宝义, 潘振业, 等. 清洁级豚鼠的培育和繁殖群的建立[J]. 上海实验动物科学, 1991, 11(4):202-204.
- [26] 夏放, 张华琼, 黄麟, 等. SPF仓鼠种群的建立及规模化生产[J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(3):165-167. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2005.03.009.
- [27] 陈天培, 潘振业, 马东林. 狨猴的研究: (I)饲养与管理[J]. 上海实验动物科学, 1985, 5(4):250-252.
- [28] 峰晓尉. 棉顶狨猴在我国首次繁殖成功[J]. 上海实验动物科学, 1988, 8(1):39.
- [29] 余家璜, 沈志明, 富群华, 等. 髯狨猴的饲养管理研究初报[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(2):80-81.
- [30] 梁梧生, 练幼辉, 黄小琴. 棉顶狨饲养与繁殖经验[J]. 上海实验动物科学, 1992, 12(4):215-216.
- [31] 梁梧生, 黄小琴, 练幼辉. 笼养棉顶狨猴的育婴行为[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(1):14-16.
- [32] 王胜昌, 朱钟麟, 沈志敏. 两种狨猴血红蛋白及血清乳酸脱氢酶同工酶的比较[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(3):173-175.
- [33] 朱钟麟, 沈志敏. 普通狨猴牙齿生长与年龄的关系[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(4):220-221.
- [34] 李萌乾, 王青松, 张占恒, 等. 普通狨猴部分传染性疾病的
- 检疫指标的探讨[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(4):330-334. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.04.0014.
- [35] 焦克卿, 洪宝庆, 徐植岚, 等. 白化黑线仓鼠的生长发育[J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(1):5-8.
- [36] 李爱学, 曾林, 尚世臣, 等. 黑线仓鼠白化突变系抑制差减文库的构建及初步分析[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(1):19-22. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.01.004.
- [37] 黄珍祯, 赵源, 樊海艇, 等. 黑线毛足仓鼠实验动物化及部分生物学特性观察[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(5):384-388. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.05.018.
- [38] 廖力夫, 黎唯. 室温与光照对子午沙鼠和灰仓鼠繁殖的影响[J]. 上海实验动物科学, 1999, 19(2):87-89.
- [39] 王洪, 廖力夫, 徐艺玫, 等. 灰仓鼠血液生理生化指标及脏器系数性别间比较[J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(6):375-378. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2009.06.005.
- [40] 高正琴, 贺争鸣, 张强, 等. 中国灰仓鼠气管和回盲部细菌分离鉴定及药敏试验[J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(2):93-99. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2009.02.005.
- [41] 侯岩岩, 麦丽开, 史深, 等. 灰仓鼠净化及生长发育指标测定[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(4):293-294. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.04.016.
- [42] 侯岩岩, 史深, 麦丽开, 等. 普通级与清洁级灰仓鼠血液学及生化指标的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(4):295-297. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.04.017.
- [43] 付瑞, 李晓波, 王吉, 等. 抗树鼩、灰仓鼠和长爪沙鼠IgG抗体的制备及标记[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(5):441-445. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.05.015.
- [44] 廖力夫, 徐艺玫, 黎唯, 等. 子午沙鼠的室内生长发育观察[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(4):290-294. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.04.009.
- [45] 徐艺玫, 史深, 罗芸, 等. 新疆子午沙鼠尿液采集方法的建立及尿液部分生化指标的测定[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(1):55-58. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.01.012.
- [46] 王春燕, 吴晓梅, 宁磊, 等. 中国西部地区野生小鼠遗传学调查进展[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(3):180-181.
- [47] 张瑞忠, 赵国际, 鲍世民, 等. 中国7个动物地理区小家鼠的Hbb多态性分布[J]. 上海实验动物科学, 1996, 16(3/4):152-154.
- [48] 徐植岚, 王建. 达乌尔鼠兔驯育观察[J]. 上海实验动物科学, 1986, 6(2):106-109.
- [49] 陆开祥, 陈新建, 褚平, 等. 鼠兔的人工驯养与实验应用的点滴体会[J]. 上海实验动物科学, 1987, 7(2):90-91.

- [50] 鲍世民, 张瑞忠, 张德福, 等. 高原鼠兔上海地区驯育初探[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(3):140-143.
- [51] 叶润蓉, 曹伊凡, 白琴华. 高原鼠兔主要脏器重量[J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(2):82-84.
- [52] 张瑞忠, 鲍世民, 张德福. 高原鼠兔乳酸脱氢酶同工酶测定[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(3):176-178.
- [53] 赵建文, 田海秋, 孙淑芬, 等. 高原鼠兔部分生理及血液生化测定值[J]. 上海实验动物科学, 1997, 17(4):223-225.
- [54] 范微, 王忠东, 陶元清, 等. 喜马拉雅旱獭肝穿刺方法的建立[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(4):287-289. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.04.014.
- [55] 王忠东. 喜马拉雅旱獭实验笼具的设计与应用[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(4):356-357. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.04.022.
- [56] 张评浒, 陶元清, 江振洲, 等. 喜马拉雅旱獭作为药物线粒体毒性替代模型的可行性分析[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(5):436-440. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.05.014.
- [57] 陶元清. 喜马拉雅旱獭繁殖设施的设计与应用[J]. 实验动物与比较医学, 2015, 35(3):242-244. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2015.03.014.
- [58] 刘海青, 吴克梅, 张静宵, 等. 白化喜马拉雅旱獭自然感染体外寄生虫监测与净化效果评价[J]. 实验动物与比较医学, 2015, 35(5):403-405,430. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2015.05.012.
- [59] 薛康宁, 李晓燕, 李利利, 等. 美洲旱獭感染实验饲养管理及实验技术探讨[J]. 实验动物与比较医学, 2015, 35(4):320-322. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2015.04.014.
- [60] 朱国正, 汪英华, 雷观愚, 等. 东方田鼠的实验室饲养及其抗血吸虫感染特性[J]. 上海实验动物科学, 1991, 11(4):193-198,201.
- [61] 鲍世民, 沈志明, 余家璜. 东方田鼠乳酸脱氢酶同工酶研究[J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(3/4):175-178,190.
- [62] 沈志明, 余家璜. 东方田鼠的驯育与繁殖研究初报[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(2):88-90.
- [63] 邵伟娟, 余家璜, 王小明, 等. 东方田鼠的血液及血清生化测定值[J]. 上海实验动物科学, 1996, 16(1):46,52.
- [64] 潘漪清, 邵伟娟, 高诚, 等. 东方田鼠血液及血清生化指标的测定[J]. 上海实验动物科学, 1999, 19(3):170-171.
- [65] 刘宗传, 何永康, 王新莲. 东方田鼠颗粒饲料研制初报[J]. 上海实验动物科学, 1999, 19(1):53-54.
- [66] 刘宗传, 罗新松, 杨瑞青, 等. 东方田鼠微生物学与寄生虫学检测初报[J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(1):20-21,25.
- [67] 高诚, 沈志敏, 刘雄伟, 等. 不同地区东方田鼠微生物学和寄生虫学检测初步研究[J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(1):22-25.
- [68] 柏熊, 邢正弘, 沈志敏, 等. 东方田鼠人工繁育观察[J]. 实验动物与比较医学, 2006, 26(4):242-244. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2006.04.010.
- [69] 谢建云, 冯洁, 柏熊, 等. 四种群东方田鼠线粒体DNA D-loop 多态性研究[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(5):299-303. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2008.05.004.
- [70] 魏晓锋, 谢建云, 胡建华, 等. 野生和人工饲养洞庭湖种群东方田鼠血液及血清生化指标的测定[J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(5):315-316. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2009.05.011.
- [71] 姜宪环, 蔡慧强, 高骏, 等. 用 LA-PCR 方法克隆东方田鼠部分 Y 染色体序列[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(4):324-328,333. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.04.014.
- [72] 高骏, 倪丽菊, 孙凤萍, 等. 东方田鼠指名亚种的线粒体基因组序列分析及系统进化研究[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(3):167-173. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.03.001.
- [73] 邵国艳, 谢建云, 高诚. 东方田鼠抗日本血吸虫病相关免疫学研究进展[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(3):243-246. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.03.017.
- [74] 柏熊, 林金杏, 王晓东, 等. 两种群东方田鼠生长发育及繁殖性能观测[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(2):135-140. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.02.011.
- [75] 柴淑梅, 傅志强, 谢建芸. 东方田鼠在医学生物学研究与应用进展[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(1):72-77. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.016.
- [76] 周顺长, 蔡红琳, 周明, 等. 人工饲养条件下树鼩的生物学特性观察[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(1):33,47.
- [77] 周顺长, 蔡红琳. 树鼩中枢神经系统的某些解剖学特点[J]. 上海实验动物科学, 1993, 13(3):176-177.
- [78] 班克臣, 苏建家, 杨春, 等. 树鼩肝活检及麻醉和抽血技术[J]. 上海实验动物科学, 1998, 18(1):29-30.
- [79] 苏秋香, 杨晓霞, 王素华, 等. 树鼩卵巢和输卵管显微结构观察[J]. 上海实验动物科学, 1999, 19(3):143-145.
- [80] 岳惠芬, 翟丹梅, 苏建家, 等. 树鼩超数排卵初探[J]. 上海实验动物科学, 2004, 24(1):41-42,45. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2004.01.012.
- [81] 钱玉婧, 蒋金萍, 张瑞忠. 树鼩人工哺育初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(2):129-130. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2008.02.015.
- [82] 陈丽玲, 刘汝文, 郑红, 等. 两种麻醉剂对树鼩麻醉效果的初步观察[J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(3):194-195. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2009.03.013.
- [83] 刘汝文, 角建林, 陈丽玲, 等. 树鼩驯养中环境条件初步探讨[J]. 实验动物与比较医学, 2010, 30(5):381-383. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2010.05.016.
- [84] 角建林, 李波, 李进涛, 等. 野生和实验室树鼩营养状况的对比分析[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(4):290-

292. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.04.015.
- [85] 李波, 金会艳, 陈丽玲, 等. 树鼩断尾后运动及生长发育状况观察[J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(6):436-440. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2011.06.008.
- [86] 陈丽玲, 刘汝文, 何保丽, 等. 树鼩与大、小鼠胃肠排空时间的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(3):241-242. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2012.03.015.
- [87] 徐文滢, 李霞, 和占龙, 等. 六种实验动物主要消化腺的比较组织学研究[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(6):454-462. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.06.005.
- [88] 匡德宣, 王文广, 孙晓梅, 等. 驯养繁殖树鼩主要消化腺的组织学观察[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(1):13-18. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.01.003.
- [89] 宋庆凯, 苗雨润, 尹博文, 等. 腹泻树鼩肠道阿米巴原虫携带情况调查[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(6):415-418. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.06.002.
- [90] 王东宝, 胡云章, 胡凝珠, 等. 树鼩经甲型肝炎减毒活疫苗、乙型肝炎疫苗及联合硫酸乙酰肝素佐剂免疫后的免疫效果评价[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(2):113-117. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.02.006.
- [91] 苗雨润, 宋庆凯, 匡德宣, 等. 树鼩角膜原代上皮细胞的分离培养、纯化与鉴定[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(2):130-135. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.02.009.
- [92] 杨冬梅, 朱勤, 李娜, 等. 树鼩形觉剥夺性近视模型的建立及观察[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(3):171-178. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.03.001.
- [93] 苗雨润, 李娜, 匡德宣, 等. 体外诱导树鼩骨髓间充质干细胞向神经元样细胞分化的实验研究[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(5):337-343. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.05.001.
- [94] 刘城秀, 李娜, 全品芬, 等. 封闭群树鼩的微卫星遗传特性分析[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(1):1-9. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.001.
- [95] 贾杰, 代解杰. 树鼩在生物医学研究中的优势与挑战[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(1):3-8. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.01.002.
- [96] 王璇, 王文广, 李娜, 等. 树鼩脊髓星形胶质细胞的分离鉴定[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(1):15-20. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.01.004.
- [97] 王文广, 匡德宣, 陆彩霞, 等. 树鼩肺成纤维细胞的分离、鉴定和传代培养[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(2):105-110. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.02.007.
- [98] 李明学, 黎晓慧, 黄鑫, 等. 树鼩大脑皮层少突胶质前体细胞的分离鉴定[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(4):260-266. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.04.002.
- [99] 王文广, 匡德宣, 李娜, 等. 树鼩Mfsd2a基因的克隆分析和不同组织表达量的检测[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(3):178-186. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.03.002.
- [100] 李晓飞, 孙晓梅, 王文广, 等. 树鼩连接黏附分子 A 的基因克隆及初步功能研究[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(3):196-203. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.03.004.
- [101] 聂金荣, 刘金明, 叶亚玉. 长爪沙鼠的饲养管理和繁殖[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(1):20-22,19.
- [102] 聂金荣, 聂朝晖. 长爪沙鼠行为观察[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(3):154-156,163.
- [103] 张继恩, 聂嘉伍. 长爪沙鼠清洁生产群的建立[J]. 上海实验动物科学, 1995, 15(4):222-223.
- [104] 聂金荣, 聂朝晖. 长爪沙鼠、金黄仓鼠和 SD 大鼠脑底动脉的比较解剖学观察[J]. 上海实验动物科学, 1998, 18(3/4):141-143.
- [105] 张继恩. 清洁级长爪沙鼠大群繁殖性能观察[J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(2):101-103.
- [106] 萨晓婴, 刘月环, 刘迪文. 用 DNA 指纹技术分析 Z: ZCLA 长爪沙鼠的遗传质量[J]. 上海实验动物科学, 2005, 25(1):39-40. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2005.01.009.
- [107] 刘月环, 柯贤福, 楼琦, 等. 普通级 Z: ZCLA 长爪沙鼠在 11 个生化基因位点多态性的初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2006, 26(3):165-168. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2006.03.009.
- [108] 刘月环, 吴旧生, 施张奎. 长爪沙鼠 β -防御素基因的克隆与鉴定[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(4):215-219. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2008.04.004.
- [109] 刘月环, 石巧娟, 郭红刚, 等. 长爪沙鼠载脂蛋白 E4 外显子的克隆初报[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(5):289-298. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2008.05.003.
- [110] 卫礼, 王吉, 付瑞, 等. 长爪沙鼠小鼠肝炎病毒抗体 ELISA 检测方法的建立与初步应用[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(3):204-209. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.03.008.
- [111] 王吉, 卫礼, 付瑞, 等. 长爪沙鼠淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒抗体 ELISA 检测方法的建立与应用[J]. 实验动物与比较医学, 2015, 35(6):473-477. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2015.06.009.
- [112] 刘月环, 王志远, 杜江涛, 等. 长爪沙鼠高脂血症的初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):365-371. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.004.
- [113] 李银银, 龚菁菁, 吴绍亮, 等. ND3 在自发性糖尿病长爪沙鼠 5 种组织中的表达[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(1):6-10. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.01.002.
- [114] 王存龙, 杜小燕, 刘欣, 等. 雌二醇诱导雄性长爪沙鼠乳

- 腺增生模型的初探[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(5):352-356. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.05.003.
- [115] 王志远, 刘月环. 长爪沙鼠肝脏基因组 DNA 甲基化水平检测[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(1):44-47. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.008.
- [116] 李迎, 杜小燕, 崔晓霞, 等. 长爪沙鼠近交系培育中血液生理生化指标的变化[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(1):48-53. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.009.
- [117] 孙伟, 汤球, 赵善民, 等. 裸鼯鼠的人工饲养繁育初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(4):296-300. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2013.04.010.
- [118] 林丽芳, 赵懿宁, 赵善民, 等. 裸鼯鼠与C57BL/6小鼠自噬调节的比较研究[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(4):301-305. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.04.011.
- [119] 袁子彦, 赵懿宁, 张璐, 等. 裸鼯鼠肝脏显微结构与超微结构观察[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(5):373-377. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.05.011.
- [120] 袁子彦, 赵懿宁, 张璐, 等. 裸鼯鼠肺脏显微结构与超微结构观察[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(5):378-382. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.05.012.
- [121] 袁子彦, 赵懿宁, 张璐, 等. 裸鼯鼠心脏显微结构与超微结构观察[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(5):383-387. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.05.013.
- [122] 张璐, 赵懿宁, 袁子彦, 等. 裸鼯鼠与C57BL/6J小鼠肾脏组织结构及超微结构比较[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(5):388-394. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.05.014.
- [123] 赵善民, 赵懿宁, 汤球, 等. 裸鼯鼠胸腺、脾脏及淋巴结解剖学、组织学与超微结构的初步观察[J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(5):395-399. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2013.05.015.
- [124] 肖邦, 赵善民, 林丽芳, 等. 裸鼯鼠不同组织中低氧相关基因的表达[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):400-404,410. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.012.
- [125] 赵善民, 林丽芳, 肖邦, 等. 低氧对裸鼯鼠皮肤成纤维细胞自噬水平及凋亡的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):405-410. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.013.
- [126] 林丽芳, 肖邦, 赵善民, 等. Poly I : C 刺激对裸鼯鼠体内自噬水平的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):411-416. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.014.
- [127] 林丽芳, 肖邦, 赵善民, 等. 裸鼯鼠外周血白细胞免疫相关因子mRNA表达水平的检测[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):417-421,427. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.015.
- [128] 肖邦, 赵善民, 林丽芳, 等. 裸鼯鼠抵抗病毒感染相关机制的初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):422-427. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.016.
- [129] 赵善民, 肖邦, 王运慧, 等. 抑癌基因p53在裸鼯鼠不同组织中表达水平的差异[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):428-432. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.017.
- [130] 肖邦, 李莉, 余琛琳, 等. 氯化钴诱导低氧对裸鼯鼠肝星形细胞增殖及凋亡的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(1):66-71. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.01.014.
- [131] 程继帅, 李莉, 肖邦, 等. 裸鼯鼠骨髓巨噬细胞分离培养方法的建立及其功能的初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(1):72-75. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.01.015.
- [132] 林丽芳, 李莉, 肖邦, 等. 应用通用荧光引物筛选裸鼯鼠微卫星位点方法的建立[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(1):76-80. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.01.016.
- [133] 程继帅, 袁征, 杨文静, 等. 裸鼯鼠血清中免疫球蛋白的分离纯化及含量的检测[J]. 实验动物与比较医学, 2017, 37(5):414-417. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2017.05.014.
- [134] 杨文静, 李煜, 冯延, 等. 裸鼯鼠海马神经元纯化模型建立及其低氧耐受特性机制的初步研究[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(6):467-472. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.06.008.
- [135] 林丽芳, 张成财, 李煜, 等. Poly I : C 刺激对裸鼯鼠和小鼠巨噬细胞 PKR/eIF2 α 信号通路影响的比较研究[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(6):473-478. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2019.06.009.
- [136] 陈超, 丛薇, 杨文静, 等. 裸鼯鼠与小鼠抗辐射能力比较研究[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(6):479-483. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.06.010.
- [137] 陈超, 丛薇, 杨文静, 等. 裸鼯鼠抗化学诱癌因素特性的研究[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(6):484-488. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.06.011.
- [138] 冯延, 武文卿, 张静远, 等. 裸鼯鼠皮肤成纤维细胞分泌体的分离及鉴定[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6):506-512. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.06.007.
- [139] 杨蓉, 赵懿宁, 杨文静, 等. ^{60}Co γ 射线辐射对裸鼯鼠脾脏的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6):519-522,527. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.06.009.
- [140] 张静远, 张倩倩, 赵懿宁, 等. ^{60}Co γ 射线辐射对裸鼯鼠肾脏、肺脏以及骨骼肌的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6):513-518. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.06.008.
- [141] 张成财, 刘尹航, 陈超, 等. 脂多糖对裸鼯鼠肺脏组织影响的初探[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6):523-527. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.06.010.
- (收稿日期: 2020-11-27 修回日期: 2020-12-25)

慢性低氧性肺动脉高压大鼠动脉血气分析指标的变化及其意义

张舒婷¹, 姚青青², 李宜珊², 施熠炜²

(1. 山西医科大学生物化学与分子生物学教研室, 太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科, 太原 030001)

[摘要] 目的 探讨慢性低氧诱导的低氧性肺动脉高压大鼠模型中动脉血气分析指标的变化及意义。方法 随机将 36 只 SD 雄性大鼠分为常氧对照组和低氧(1、3、7、14 和 21 d)组, 低氧组置于低氧舱(O_2 体积分数为 10%)相应的天数。采用右心导管法测定右心室收缩压(RVSP), 计算右心室(RV)与左心室(LV)+室间隔(S)质量比值, 得出右心室肥厚指数(RVHI)。采用 Masson 染色法观察肺动脉病理结构改变。经腹主动脉取血进行动脉血气分析, 测定指标包括酸碱度(pH)、动脉血二氧化碳分压($PaCO_2$)、动脉血氧分压(PaO_2)、动脉血氧饱和度(SaO_2)、碳酸氢盐(HCO_3^-)、钠离子(Na^+)、钾离子(K^+)、钙离子(Ca^{2+})、血细胞比容(Hct)和血红蛋白(Hb)。结果 低氧各组大鼠 RVSP 和 RVHI 均明显高于常氧对照组($P < 0.05$)。与常氧对照组相比, 低氧(7、14、21 d)组大鼠肺动脉异常重塑。与常氧对照组相比, 低氧各组 pH 和 HCO_3^- 含量均明显降低($P < 0.05$), 低氧 21 d 组 $PaCO_2$ 显著增高($P < 0.05$), 低氧 14 d 组 PaO_2 和 SaO_2 均明显降低($P < 0.05$), 除低氧 1 d 外各组 Na^+ 浓度和低氧 3 d 组 Ca^{2+} 浓度明显降低($P < 0.05$), 除低氧 14 d 外各组 K^+ 浓度显著升高($P < 0.05$), 低氧各组 Hct 和 Hb 水平均明显升高($P < 0.05$)。低氧性肺动脉高压大鼠动脉血气分析中 Na^+ 水平与 RVSP 呈负相关($P < 0.05$)。结论 低氧性肺动脉高压大鼠动脉血气分析指标 pH、 $PaCO_2$ 、 PaO_2 、 SaO_2 、 HCO_3^- 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、Hct 和 Hb 发生明显变化, 参与并调控低氧性肺动脉高压的发生发展, 其中 Na^+ 水平可能成为间接评估低氧性肺动脉高压严重程度的指标。

[关键词] 慢性低氧; 肺动脉高压; 血管重塑; 血气分析; 大鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0027-06

Changes and Significance of Arterial Blood Gas Analysis Indexes in Rats with Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension

ZHANG Shuting¹, YAO Qingqing², LI Yishan², SHI Yiwei²

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Shanxi Medical University Affiliated First Hospital, Taiyuan 030001, China)

Correspondence to: SHI Yiwei, E-mail: chinasyw225@163.com

[Abstract] **Objective** To investigate the changes and significance of arterial blood gas analysis indexes in a rat model of pulmonary hypertension induced by chronic hypoxia. **Methods** Thirty-six SD male rats were randomly divided into the normoxic control group and the hypoxic groups. The rats in the hypoxic groups were placed in a hypoxic chamber (10% oxygen concentration) for 1, 3, 7, 14, 21 days, respectively. Right ventricular systolic pressure (RVSP) was measured by right ventricular catheter, and right ventricular hypertrophy index (RVHI) was calculated by calculating the weight ratio of right ventricle (RV) to [left ventricle (LV) +

[基金项目] 山西省应用基础研究项目(201601D011110)

[作者简介] 张舒婷(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肺血管病。E-mail: 18834180668@163.com

[通信作者] 施熠炜(1977—), 男, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 呼吸危重症与肺血管病。E-mail: chinasyw225@163.com

ventricular septum (S)]. Masson staining was used to observe the pathological changes of pulmonary artery. Blood was taken from the abdominal aorta for the arterial blood gas analysis to determine the following indexes: pondus hydrogenii (pH), arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO_2), arterial partial pressure of oxygen (PaO_2), arterial oxygen saturation (SaO_2), bicarbonate (HCO_3^-), sodium (Na^+), potassium (K^+), calcium (Ca^{2+}), hematocrit (Hct) and hemoglobin (Hb). **Results** RVSP and RVHI of the rats were significantly increased in the hypoxic groups compared with the normoxic control group ($P < 0.05$). Compared with the normoxic control group, the hypoxic groups (7, 14, 21 days) had abnormal pulmonary artery remodeling. Compared with the normoxic control group, the pH and HCO_3^- levels of the hypoxic groups were significantly reduced ($P < 0.05$); PaCO_2 level was significantly increased in the hypoxic 21-day group ($P < 0.05$), PaO_2 and SaO_2 levels were significantly decreased in the hypoxic 14-day group ($P < 0.05$), the Na^+ concentration (except hypoxia 1-day group) and the Ca^{2+} concentration (hypoxic 3-day group) were significantly reduced ($P < 0.05$); the K^+ concentrations were increased significantly in the hypoxic groups (except hypoxia 14-day group) ($P < 0.05$); Hct and Hb were significantly increased in the hypoxic groups ($P < 0.05$). There was a significant negative correlation between Na^+ and RVSP in rats with hypoxic pulmonary hypertension ($P < 0.05$). **Conclusion** The arterial blood gas analysis indexes, including pH, PaCO_2 , PaO_2 , SaO_2 , HCO_3^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Hct and Hb are significantly changed, and participate in and regulate the development and progression of hypoxic pulmonary hypertension in rats, in which Na^+ level may be used as an indicator to evaluate the severity of hypoxic pulmonary hypertension indirectly.

[Key words] Chronic hypoxia; Pulmonary hypertension; Vascular remodeling; Blood gas analysis; Rats

肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PH) 是一种慢性肺循环疾病, 由多种内外因素引起肺血管结构和 (或) 功能改变, 使肺血管阻力进行性升高, 最终肺动脉压增高。PH 中有一类低氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH), 此类患者的 5 年生存率仅为 20%~36%, 并且随着病情进展, 死亡率明显升高^[1-2]。因此, 尽早发现和治疗 HPH 对于延缓病程, 降低病死率极其重要。动脉血气分析作为一种常用检测方法, 可以同时快速准确地检测动脉血中血气、电解质及代谢物等的变化, 对于疾病的及时诊疗具有重要意义^[3], 但是目前关于动脉血气分析在 HPH 中的作用相关研究还比较少。因此, 本研究首先构建 HPH 整体动物模型, 然后进行动脉血气分析, 通过观察动脉血气分析指标的变化, 探讨动脉血气分析指标在 HPH 形成和发展中的作用及意义。

1 材料与方法

1.1 动物模型的构建和分组

SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只, 8 周龄, 体质量 200~250 g, 购自山西医科大学动物中心[SCXK

(晋)2015-0001]。将大鼠在通风良好, 环境安静, 温度 (24 ± 2) °C 的室内适应性饲养 7 d, 每日光照 12 h, 自由饮食[SYXK(晋)2015-0001]。随后将大鼠分为常氧对照组和低氧 1 d、3 d、7 d、14 d 和 21 d 组, 其中常氧对照组大鼠在设施内正常饲养 (O_2 体积分数为 21%), 其余 5 个低氧组大鼠按经典低氧舱造模方法放置在 O_2 体积分数为 10% 的低氧舱 (长沙长锦科技有限公司, CJ-DO2 245) 内分别饲养 1 d、3 d、7 d、14 d 和 21 d。低氧舱内放有钠石灰和氯化钙, 可吸收二氧化碳 (CO_2) 和水蒸气。每日打开舱门 30 min 清理低氧舱, 并补充水和食物。本研究严格遵循科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的要求, 在符合动物福利伦理的条件下进行。

1.2 测定大鼠右心室收缩压(right ventricular systolic pressure, RVSP)和右心室肥厚指数(right ventricular hypertrophy index, RVHI)

低氧造模结束后, 取出大鼠, 按体质量向腹腔内注射质量分数为 10% 的水合氯醛 (4 mL/kg) 进行麻醉并固定。逐层暴露右颈外静脉, 将 PE-50 聚乙烯导管 (美国 Scientific Commodities Inc 公司产品) 一端经右颈外静脉插入右心室 (right

ventricular, RV), 另一端连接 PowerLab 多导生理记录仪 (澳大利亚 ADInstruments 公司产品), 采用右心导管法^[4]测量 RVSP。测定完成后, 分离出心脏 RV、左心室 (left ventricular, LV) + 室间隔 (septum, S), 分别称取质量, 并计算二者比值, 以此评价右心室肥厚的程度, $RVHI = RV / (LV + S) \times 100\%$ 。

1.3 肺组织 Masson 染色及观察

收集大鼠的右下肺, 用质量分数为 4% 的甲醛溶液固定 3 d, 然后以不同体积分数的乙醇溶液脱水, 二甲苯透明后, 液体石蜡进行包埋, 用切片沿肺门纹理横切, 制作厚度约 5 μm 的肺组织切片, 进行 Masson 染色, 显微镜下观察肺动脉形态结构的病理学变化。

1.4 动脉血气分析的测定

剖腹后, 采用肝素抗凝针经腹主动脉取血 2 mL, 注意排出针管内的气泡和隔绝空气, 使用 ABL800 血气分析仪 (丹麦 Radiometer 公司产品) 在 15 min 内进行动脉血检测, 测定指标包括血液酸碱度即 pH 值、动脉血二氧化碳分压 (arterial partial pressure of carbon dioxide, PaCO_2)、动脉血氧分压 (arterial partial pressure of oxygen, PaO_2)、动脉血氧饱和度 (arterial oxygen saturation, SaO_2)、碳酸氢盐 (HCO_3^-)、钠离子 (Na^+)、钾离子 (K^+)、钙离子 (Ca^{2+})、血细胞比容 (hematocrit, Hct) 和血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 含量。

1.5 统计学方法

数据统计分析应用 SPSS 20.0 软件, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料, 常氧对照组和低氧组 (1、3、7、14 和 21 d) 比较采用单因素方差分析, 数据相关性分析采用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 RVSP 和 RVHI 的变化

相较于常氧对照组, 低氧各组的 RVSP 和 RVHI 明显增高 ($P < 0.05$), 并且随着低氧时间的延长呈升高趋势 (表 1)。

2.2 肺动脉显微结构观察

Masson 染色观察发现, 常氧对照组肺动脉

表 1 大鼠 RVSP 和 RVHI 比较

Table 1 Comparison of RVSP and RVHI in rats

组别	n	RVSP/mmHg	RVHI/%
常氧对照	6	23.76 $\pm$ 2.01	100.00 $\pm$ 0.00
低氧 1 d	6	35.31 $\pm$ 2.98*	114.96 $\pm$ 19.51*
低氧 3 d	6	40.37 $\pm$ 4.21*	122.21 $\pm$ 21.58*
低氧 7 d	6	48.29 $\pm$ 2.66*	134.57 $\pm$ 29.11*
低氧 14 d	6	46.18 $\pm$ 5.95*	150.80 $\pm$ 18.86*
低氧 21 d	6	50.13 $\pm$ 3.17*	153.96 $\pm$ 24.14*
F 值		46.272	6.543
P 值		<0.001	0.001

注: RVSP 为右心室收缩压, RVHI 为右心室肥厚指数; 1 mmHg=0.133 kPa; 与常氧对照组比较, * $P < 0.05$ 。

形态结构正常 (图 1A); 低氧 1、3 d 组肺动脉变化不明显; 低氧 7、14、21 d 组可见肺动脉出现不同程度的改变, 管壁增生肥厚且有大量胶原纤维沉积, 管腔变窄, 而且低氧时间越长, 这种改变越明显 (图 1B、C、D)。

2.3 动脉血气分析各指标水平

2.3.1 血气指标 pH、 PaCO_2 、 PaO_2 、 SaO_2 和 HCO_3^- 水平比较

与常氧对照组相比, 低氧各组 pH 和 HCO_3^- 水平明显降低 ($P < 0.05$), 低氧 21 d 组 PaCO_2 明显增高 ($P < 0.05$), 低氧 14 d 组 PaO_2 和 SaO_2 明显降低 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.3.2 电解质指标 Na^+ 、 K^+ 和 Ca^{2+} 水平比较

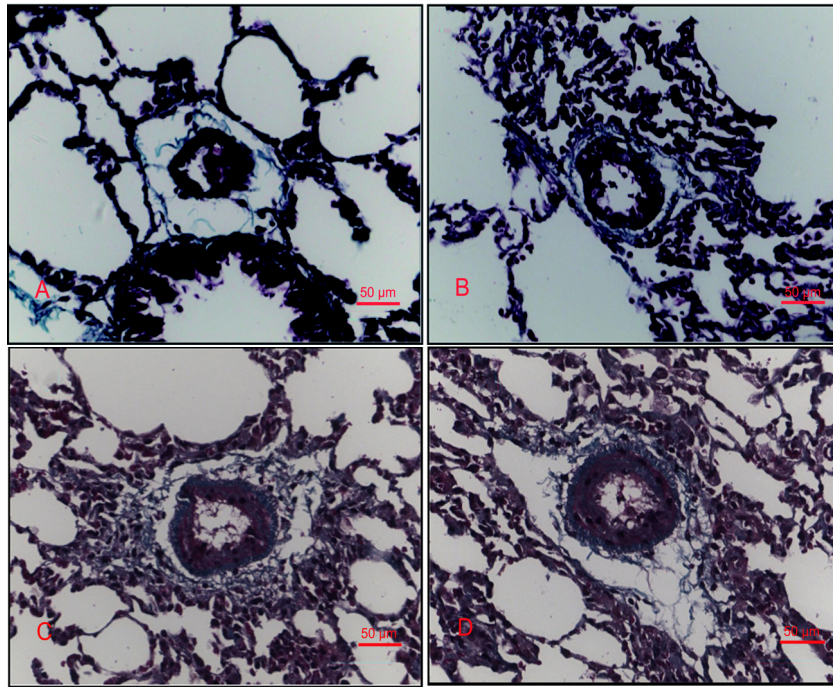
相比于常氧对照组, 低氧 3、7、14 和 21 d 组 Na^+ 水平下降明显 ($P < 0.05$), 低氧 1、3、7 和 21 d 组 K^+ 水平升高明显 ($P < 0.05$), 低氧 3 d 组 Ca^{2+} 水平下降明显 ($P < 0.05$) (表 3)。

2.3.3 生化指标 Hct、Hb 水平比较

与常氧对照组比较, 低氧各组 (1、3、7、14、21 d) 的 Hct 和 Hb 水平均明显提高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 4)。

2.4 动脉血气分析指标与 RVSP 的相关性

HPH 动脉血气分析指标中, Na^+ 水平与 RVSP 呈明显负相关 ($P < 0.05$) (表 5, 图 2), 其余指标与 RVSP 的相关性并不显著。



注：A 示常氧对照组，B 示低氧 7 d 组，C 示低氧 14 d 组，D 示低氧 21 d 组。

图 1 大鼠肺组织 Masson 染色 ($\times 400$)

Figure 1 Masson staining of the lung tissue of rats ($\times 400$)

表 2 大鼠血气指标 pH、PaCO₂、PaO₂、SaO₂ 和 HCO₃⁻ 水平比较

Table 2 Comparison of blood gas index pH, PaCO₂, PaO₂, SaO₂ and HCO₃⁻ levels in rats

($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	pH	PaCO ₂ /mmHg	PaO ₂ /mmHg	SaO ₂ /%	HCO ₃ ⁻ /(mmol · L ⁻¹)
常氧对照	6	7.38 ± 0.01	47.25 ± 1.44	103.00 ± 7.71	97.00 ± 0.41	29.50 ± 0.30
低氧 1 d	6	7.22 ± 0.04*	47.67 ± 4.18	105.33 ± 8.04	94.83 ± 2.77	19.55 ± 1.79*
低氧 3 d	6	7.29 ± 0.03*	44.50 ± 3.45	84.67 ± 4.71	94.67 ± 0.92	21.08 ± 0.57*
低氧 7 d	6	7.26 ± 0.01*	46.83 ± 1.40	96.67 ± 2.95	96.33 ± 0.42	21.32 ± 0.35*
低氧 14 d	6	7.27 ± 0.02*	51.50 ± 1.28	66.67 ± 1.15*	84.12 ± 4.19*	23.77 ± 1.40*
低氧 21 d	6	7.23 ± 0.03*	56.00 ± 1.35*	85.57 ± 9.60	90.43 ± 3.88	23.79 ± 1.43*
<i>F</i> 值		3.483	2.926	3.068	2.755	6.477
<i>P</i> 值		0.014	0.029	0.024	0.037	<0.001

注：pH 为酸碱度，PaCO₂ 为动脉血二氧化碳分压，PaO₂ 为动脉血氧分压，SaO₂ 为动脉血氧饱和度，HCO₃⁻ 为碳酸氢盐；与常氧对照组比较，**P* < 0.05。

表 3 大鼠电解质指标 Na⁺、K⁺ 和 Ca²⁺ 水平比较

Table 3 Comparison of electrolyte indicator Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ levels in rats

($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	Na ⁺ /(mmol · L ⁻¹)	K ⁺ /(mmol · L ⁻¹)	Ca ²⁺ /(mmol · L ⁻¹)
常氧对照	6	133.00 ± 0.82	5.70 ± 0.15	1.19 ± 0.02
低氧 1 d	6	130.17 ± 0.95	8.13 ± 0.49*	1.25 ± 0.03
低氧 3 d	6	129.33 ± 0.99*	8.80 ± 0.65*	1.09 ± 0.02*
低氧 7 d	6	129.33 ± 0.84*	8.80 ± 0.46*	1.17 ± 0.01
低氧 14 d	6	128.67 ± 1.61*	6.55 ± 0.29	1.15 ± 0.02
低氧 21 d	6	129.29 ± 0.81*	7.40 ± 0.24*	1.15 ± 0.03
<i>F</i> 值		1.643	7.385	5.306
<i>P</i> 值		0.018	<0.001	0.001

注：Na⁺ 为钠离子，K⁺ 为钾离子，Ca²⁺ 为钙离子；与常氧对照组比较，**P* < 0.05。

表 4 生化指标 Hct、Hb 水平比较
Table 4 Comparison of Hct and Hb levels

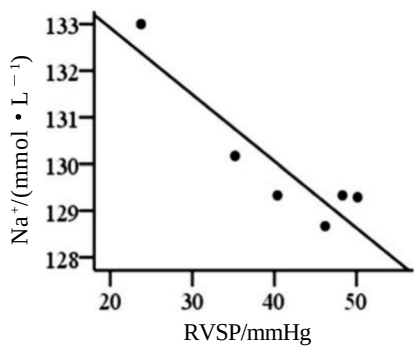
组 别	n	$(\bar{x} \pm s)$	
		Hct/%	Hb/(g · L ⁻¹)
常氧对照	6	35.50 ± 3.01	13.15 ± 1.12
低氧 1 d	6	46.00 ± 3.21*	16.88 ± 0.99*
低氧 3 d	6	54.33 ± 2.17*	20.10 ± 0.81*
低氧 7 d	6	45.17 ± 1.35*	16.68 ± 0.50*
低氧 14 d	6	56.67 ± 2.12*	20.97 ± 0.78*
低氧 21 d	6	52.67 ± 0.88*	19.50 ± 0.33*
F 值		11.804	12.253
P 值		<0.001	<0.001

注：Hct 为血细胞比容，Hb 为血红蛋白；与常氧对照组比较，**P* < 0.05。

表 5 各指标水平与 RVSP 的相关性分析
Table 5 Correlation analysis between index and RVSP

项 目	RVSP/mmHg	
	相关系数	<i>P</i> 值
pH	− 0.716	0.109
PaCO ₂ /mmHg	0.500	0.317
PaO ₂ /mmHg	− 0.588	0.219
SaO ₂ /%	− 0.521	0.290
HCO ₃ [−] /(mmol · L ^{−1})	− 0.525	0.285
Na ⁺ /(mmol · L ^{−1})	− 0.910	0.012
K ⁺ /(mmol · L ^{−1})	0.486	0.329
Ca ²⁺ /(mmol · L ^{−1})	0.401	0.431
Hct/%	0.750	0.086
Hb/(g · L ^{−1})	0.751	0.086

注：RVSP 为右心室收缩压。



注：RVSP 为右心室收缩压。

图 2 大鼠 Na⁺ 与 RVSP 的相关性分析

Figure 2 Correlation analysis between Na⁺ and RVSP in rats

3 讨论

HPH 的病理生理基础包括急性低氧性肺动脉

收缩、慢性低氧性肺动脉重塑以及血液黏稠度增加、血栓形成等，多种因素共同作用可引起肺动脉压力升高，导致右心室肥厚，最终发展为心脏衰竭而死亡^[5-6]。但是 HPH 发生、发展的具体机制尚不明确。

pH、PaCO₂、PaO₂、SaO₂ 和 HCO₃[−] 是常用的血氧和酸碱平衡指标。已有研究^[7]表明，低氧性肺动脉收缩、呼吸性酸中毒是形成 HPH 的最常见原因，低氧和酸碱失衡可导致肺血管异常重塑，当这两者共同作用可使病情加重，而且 HCO₃[−] 可作为 PH 的独立危险因素。在本实验中，通过慢性低氧构建 HPH 大鼠模型，采用 Masson 染色观察肺动脉的形态结构，发现与正常肺动脉比较，低氧后的肺动脉出现明显的肺血管重塑。同时，动脉血气分析结果显示，与常氧对照组相比，低氧后大鼠 pH、HCO₃[−] 水平明显降低，PaO₂ 和 SaO₂ 也明显降低（低氧 14 d 组），而 PaCO₂ 明显升高（低氧 21 d 组），与国内其他学者的研究结果^[8-9]相似。低氧环境下，动物通过调动体内低氧代偿机制维持正常的氧运输及利用。而在低氧 14 d 时，由于无法摄取足够 O₂，低氧引起的过氧化反应增加，大鼠出现代偿不足或失效，引起 PaO₂ 和 SaO₂ 显著降低，导致低氧血症、高碳酸血症、代谢性酸中毒以及呼吸性酸中毒。在低氧适应过程中，随着大鼠体内代偿机制的恢复，摄取和利用 O₂ 能力增强，机体可获得充足的 O₂。在低氧 21 d 时，大鼠的 PaO₂ 和 SaO₂ 又升高，说明在慢性低氧诱导的 HPH 大鼠中，低氧和酸碱失衡参与并调控了 HPH 的发生发展过程。

肺血管细胞的钠、钾和钙离子通道与低氧诱发肺动脉收缩和重塑有关^[10]。低氧可以直接抑制肺动脉平滑肌细胞（pulmonary arterial smooth muscle cells, PASMCs）的电压依赖性钾通道表达，使 K⁺ 外流减少，细胞膜发生去极化，引起钙通道开放 Ca²⁺ 发生内流，PASMCs 出现低氧性收缩和增殖。Na⁺/H⁺ 交换体是一种离子交换蛋白，可在转运一个 Na⁺ 至细胞内的同时，转运一个 H⁺ 到细胞外。低氧也可以通过激活 PASMCs 的 Na⁺/H⁺ 交换体，使细胞内 pH 升高，从而降低电压依赖性钾通道活性，增加细胞内 Ca²⁺ 浓度，引起 PASMCs 收缩和异常增殖^[11-12]。在本实验中，

低氧诱发大鼠肺动脉收缩和重塑的同时,动脉血中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 水平也发生改变, Na^+ 水平(除低氧1 d组)和 Ca^{2+} 水平(低氧3 d组)明显降低,而 K^+ 浓度(除低氧14 d组)明显升高,并且在不同低氧时间具有波动性,可能是在血液标本采集、储存、运输等过程中血细胞随机破坏发生溶血所致。在慢性低氧过程中,大鼠处于缺氧状态,电解质改变受低氧影响较大,并且随着机体酸碱状况的变化而变化。上述对不同低氧时间血氧和酸碱平衡指标的研究结果提示, Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 水平的改变可作为HPH大鼠血液酸碱失衡的参考指标之一,进一步说明这3种电解质的改变与HPH的形成密切相关;并且通过相关性分析发现 Na^+ 水平与RVSP呈显著负相关, Na^+ 可间接评价HPH病情严重程度。

Hct是反映血液黏稠度最可靠的指标,血液黏稠度越高,Hct值越大,可用于预测HPH病情严重程度^[13-14]。另外,Hb已被证实是形成HPH的重要因素^[15]。低氧可以刺激肾脏产生和释放促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)增多,促使骨髓生成红细胞和Hb增多,从而提高机体的血氧容量和血氧含量以维持正常的生理功能,并且红细胞数量增多到一定程度后可反馈性抑制EPO的生成,以抑制红细胞数量的进一步增加,Hb升高达最高值后可保持相对稳定^[16]。本研究结果显示,相比于常氧对照组,低氧后的Hct和Hb水平均显著增高,随着低氧时间的延长,为适应低氧环境,大鼠红细胞数量和Hb含量增高,Hct也随之升高。 PaO_2 和 SaO_2 在低氧14 d时最低,说明大鼠无法摄取足够 O_2 ,机体处于缺氧状态;而Hct和Hb在低氧14 d时最高,说明大鼠调动低氧代偿机制,通过增加红细胞Hb,提高携氧能力以适应低氧环境。但是,Hct升高表示肺动脉中的血液黏稠度增加,血液瘀滞,并且呈现高凝状态,加大血栓形成风险,导致肺循环阻力增大,加之仅低氧本身就可以使肺动脉发生收缩和异常重塑^[17],这几个因素的同时出现更容易诱发HPH,并加重HPH病情。

综上,HPH的病理生理过程涉及多个因素,可能与低氧、酸碱平衡紊乱、电解质改变以及血液系统异常等有关。动态监测动脉血气指标变化

对于疾病的监控以及评估HPH的严重程度具有重要的预警作用。临床医师可根据动脉血气分析结果尽早进行干预治疗及判断预后,以有效降低HPH患者的死亡率。

参考文献:

- [1] SALIM Y, ANASTASIA N, THEO T. Clinical update on pulmonary hypertension[J]. J Invest Med, 2020, 68(4): 821-827. DOI:10.1136/jim-2020-001291.
- [2] BURGER C D. Pulmonary hypertension in COPD: A review and consideration of the role of arterial vasodilators[J]. COPD, 2009, 6(2):137-144. DOI:10.1080/15412550902754252.
- [3] STEINFELDERVISSCHER J, WEERWIND P W, TEERENSTRA S, et al. Reliability of point-of-care hematocrit, blood gas, electrolyte, lactate and glucose measurement during cardio pulmonary bypass[J]. Perfusion, 2006, 21(1):33-37. DOI:10.1191/0267659106pf8460a.
- [4] 邹丽珍, 陈马云, 黄晓颖, 等. 改良右心导管法测量大鼠肺动脉压力的实验方法研究[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(4):757-762. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2014.04.033.
- [5] MONTANI D, CHAUMAIS M C, GUIGNABERT C, et al. Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension [J]. Pharmacol Ther, 2014, 141(2):172-191. DOI:10.1016/j.pharmthera.2013.10.002.
- [6] TELLO K, GALL H, RICHTER M, et al. Right ventricular function in pulmonary (arterial) hypertension[J]. Herz, 2019, 44(6):509-516. DOI:10.1007/s00059-019-4815-6.
- [7] 刘玉文, 范晓云, 陈冰, 等. 慢性阻塞性肺疾病伴急性加重继发肺动脉高压患者的相关危险因素分析[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(1):46-50. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2016.01.014.
- [8] 郭晓慧, 赵言廷, 徐赫男, 等. 超敏C-反应蛋白、D-二聚体、纤维蛋白原及血气分析与慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(3):650-652. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2015.10.074.
- [9] 林国栋, 李春华, 黄海忠. 重症喘息性疾病合并肺动脉高压患儿动脉血气指标变化及其临床意义[J]. 黑龙江医学杂志, 2015, 39(5):497-499. DOI:10.3969/j.issn.1004-5775.2015.05.013.
- [10] MÉLANIE L, VÉRONIQUE C, Andrea O, et al. Ion channels in pulmonary hypertension: A therapeutic interest[J]. J Mol Sci, 2018, 9(10):1-49. DOI:10.3390/ijms19103162.
- [11] RIOS E J, FALLON M, WANG J, et al. Chronic hypoxia elevates intracellular pH and activates Na^+/H^+ exchange in pulmonary arterial smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 289(5):L867-L874. DOI: 10.1152/ajplung.00455.2004.

(下转第54页)

葡聚糖硫酸钠不同给药方式建立小鼠溃疡性结肠炎模型

赵亚妮¹, 李瑶², 张妍¹, 王四旺², 安军明³

(1. 陕西中医药大学针灸推拿学院, 咸阳 712046; 2. 西北大学生命科学与医学部, 西安 710069;

3. 西安市中医医院针灸推拿科, 西安 710021)

[摘要] 目的 研究小鼠分别经灌胃或自由饮用葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 后发生溃疡性结肠炎的成模情况。方法 选取 32 只雄性 C57BL/6 小鼠, 随机分为空白组、3% DSS 自由饮用组、5 g/kg 和 6 g/kg DSS 灌胃组, 每组 8 只, 连续给药 7 d。每天记录各组小鼠的饮水量、体质量、粪便性状及便血情况, 进行小鼠疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分。第 8 天处死小鼠, 分离小鼠结肠、胸腺及脾脏, 称胸腺和脾脏质量, 计算免疫器官指数; 测量结肠长度, 观察结肠病理变化, 进行组织病理学评分。结果 各给药组小鼠 7 d 的 DSS 总摄入量均超过 30 mg/g。与空白组比较, 灌胃组小鼠的 DAI 评分无明显差异 ($P > 0.05$), 自由饮用组小鼠从第 3 天起 DAI 评分明显升高 ($P < 0.01$)。与空白组比较, 各给药组小鼠的结肠明显缩短 ($P < 0.01$), 但胸腺指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 自由饮用组小鼠的胸腺指数下降和结肠萎缩程度较灌胃组更明显 ($P < 0.05$)。组织病理学改变方面, 6 g/kg 灌胃组小鼠结肠发生轻微病理学变化; 自由饮用组小鼠结肠的病理学改变更为显著, 组织病理学评分明显高于灌胃各剂量组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 采用 DSS 建立小鼠溃疡性结肠炎模型时, 自由饮用的方式较灌胃造模效果更好。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 葡聚糖硫酸钠; 自由饮用; 灌胃; 小鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0033-07

Establishment of Ulcerative Colitis Model in Mice by Different Drug Delivery

Methods of Dextran Sodium Sulfate

ZHAO Yani¹, LI Yao², ZHANG Yan¹, WANG Siwang², AN Junming³

(1. College of Acupuncture and Massage, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Department of Life Science and Medicine, Northwest University, Xi'an 710069, China; 3. Department of Acupuncture and Massage Rehabilitation, Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710021, China)

Correspondence to: AN Junming, E-mail: an_71@163.com

[Abstract] **Objective** To study the modeling situation of ulcerative colitis in mice by gavage or free drinking of dextran sulfate sodium (DSS) respectively. **Methods** Thirty two male C57BL/6 mice were randomly divided into a blank control group, a 3% DSS free drinking group, 5 g/kg and 6 g/kg DSS gavage groups, with eight mice in each group. The drug treatments lasted for 7 days. The water intake, body weight, stool characteristics and hematochezia of mice in each group were recorded daily, and the disease activity index (DAI) score of mice was calculated daily. After the mice were sacrificed on the 8th day, the colon, thymus and spleen were separated, the thymus and spleen were weighed, and the immune organ index was calculated; the colon was measured for length and observed for pathological changes, and the

[基金项目] 陕西省科学技术研究发展计划项目(2015SF2-08-01); 陕西省科技创新 - 工程工程技术研究中心组建计划项目(S2018-ZC-GCZXXY-SF-0005)

[作者简介] 赵亚妮(1995—), 女, 硕士研究生。E-mail: 993158489@qq.com

[通信作者] 安军明(1971—), 男, 硕士, 主任医师, 研究方向: 针灸治疗老年病的机理与临床研究。E-mail: an_71@163.com

histopathological score was assessed. **Results** The total intake of DSS in each administration group exceeded 30 mg/g for 7 days. Compared with the blank control group, there was no significant difference in the DAI score of mice in the gavage groups ($P>0.05$), and the DAI score of mice in the free drinking group increased significantly from the 3rd day ($P<0.01$). Compared with the blank control group, the colon of mice in each administration group was shortened ($P<0.01$), but the thymus index showed no significant difference ($P>0.05$). The decreasing of thymus index and colon atrophy of mice in the free drinking group were more significant than those in the gavage groups ($P<0.05$). In terms of histopathological changes, the mice in the 6 g/kg gavage group had slight pathological changes, and the mice in the free drinking group had more significant pathological changes, and the histopathological score in the free drinking group was significantly higher than those in the gavage groups ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion** When DSS is used to establish the model of ulcerative colitis in mice, the free drinking method is more effective than the gavage administration.

[Key words] Ulcerative colitis; Dextran sodium sulfate; Free drinking; Gavage; Mice

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis) 是一种炎性肠病, 主要侵袭直肠和结肠^[1]。临床表现为体质减轻、粪便稠度改变、粪便带血和结肠缩短, 病理表现为结肠黏膜损伤和肠道组织学改变^[2-3]。近年来, 溃疡性结肠炎的发病率及向结肠癌转化率升高, 已逐渐成为全球重点关注的疾病之一^[4]。动物模型是研究疾病发病机制及研发治疗药物的重要基础, 因此建立一个成熟稳定的溃疡性结肠炎动物模型至关重要。

葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 是葡聚糖的聚阴离子衍生物, 由葡聚糖和氯磺酸的酯化反应形成^[5]。研究表明, 当小鼠自由饮用相对分子质量为 36 000~50 000 的 DSS 达到累积 30 mg/g 时, 即可成功建立急性溃疡性结肠炎模型^[6]。此外, 还可根据实验目的调整 DSS 浓度和给药时间, 建立慢性、急慢性交替模型或结肠癌模型。该造模方法操作简便, 性价比高, 重复性好, 是结肠炎建模的首选方法^[7-8]。DSS 造模给药方式多推荐自由饮用, 但许多学者担心自由饮用会因小鼠饮水量的差异造成 DSS 摄入量不均, 最终导致模型组间及组内差异较大^[9]。因此, 本实验尝试通过灌胃给药的方式控制每只小鼠的 DSS 摄入量, 以期达到与 DSS 自由饮用同样的造模效果, 为溃疡性结肠炎研究中的建模方式选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 32 只, 体质量为

18~22 g, 6~8 周龄, 由空军军医大学实验动物中心[SCXK (陕) 2019-001]提供。实验小鼠饲养于空军军医大学实验动物中心[SYXK (陕) 2019-001], 适应性饲养 1 周, 室内温度 21~25 °C, 相对湿度 40%~70%, 自由饮水, 人工控制光照昼夜 12 h, 垫料 1 周更换 2 次。实验过程中, 对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》, 按照 3R 原则给予实验动物人道关怀。

1.2 实验试剂与仪器

DSS 相对分子质量为 36 000~50 000, 购自美国 MP Biomedicals 公司 (批号 160110); 质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液购自北京雷根生物技术有限公司 (批号 1225A19); PBS 购自北京索莱宝科技有限公司 (批号 20181016); CKX41 型倒置显微镜购自日本 Olympus 公司; Shimadzu 电子天平购自岛津企业管理 (中国) 有限公司; Milli-Q Academic 超纯水系统购自德国 Merck Millipore 公司。

1.3 分组及给药

取 32 只 6~8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠, 适应性饲养 1 周后, 随机分为空白组 (Control)、3% DSS 自由饮用组 (DSS-3%)、5 g/kg DSS 灌胃组 (DSS-5 g/kg) 和 6 g/kg DSS 灌胃组 (DSS-6 g/kg), 每组 8 只。空白组小鼠自由饮水; DSS-3% 组小鼠自由饮用 3% DSS 水溶液 (将 3 g DSS 溶于 100 mL 去离子水中配制而成), 每天定时记录饮水量并更新 DSS; DSS-5 g/kg 与 DSS-6 g/kg 组小鼠分别灌胃 500 mg/mL 和 600 mg/mL

的 DSS, 小鼠的给药容量为 10 ml/kg, 溶剂为去离子水, 每天灌胃 1 次, 连续 7 d。

1.4 检测指标

实验期间, 每天记录各组小鼠的饮水量、体质量、粪便性状及便血情况, 进行疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分。DAI 评分标准^[10]见表 1。末次给药 24 h 后, 脱颈椎处死小鼠, 分离结肠, 肉眼观察病变情况, 测量结肠长度。随后取中段结肠 1 cm 左右, 用 1 mL 注射器吸取预冷的 PBS 缓冲液, 冲洗干净结肠内容物后, 将结肠组织置于 4% 的多聚甲醛溶液中, 进行 HE 染色。组织病理学评分标准^[11]见表 2。分离小鼠胸腺和脾脏, 称其质量并计算脏器指数。给药完毕后计算各组小鼠 7 d 内的 DSS 摄入量, 计算方法^[6]如下: DSS-3% 组的 DSS 摄入量 = [饮水量 (mL) × DSS (g) / 100 mL] / 小鼠体质量 (g); DSS-5 g/kg 组的 DSS 摄入量 = 5 (g/kg) × 7 (d); DSS-6 g/kg 组的 DSS 摄入量 = 6 (g/kg) × 7 (d)。

表 1 疾病活动指数 (DAI) 评分标准

Table 1 Disease activity index (DAI) scoring criteria			
体质量下降比 /%	粪便性状	粪便隐血 / 肉眼血便	计分
0	正常	正常	0
1~5	松散	隐血阳性	1
5~10	松散	隐血阳性	2
10~15	稀便	肉眼血便	3
> 15	稀便	肉眼血便	4

注: 粪便性状正常, 指成形粪便; 松散, 指不黏附于肛门的糊状、半成形粪便; 稀便, 指可黏附于肛门的稀水样便。DAI 评分 = 三项指标计分总和 / 3。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对实验结果数据进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差齐时用单因

素方差分析, 方差不齐时进行非参数检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

DSS-3% 组平均每只小鼠 7 d 内总饮水量为 26.54 mL, 计算可得 DSS-3% 组每只小鼠 7 d 的总 DSS 摄入量为 39.75 mg/g; DSS-5 g/kg 和 DSS-6 g/kg 组平均每只小鼠 7 d 内总 DSS 摄入量分别为 35 mg/g 和 42 mg/g。因此, 3 组小鼠的 DSS 摄入量均达到了溃疡性结肠炎成模剂量, 且以 DSS-6 g/kg 组小鼠的 DSS 摄入量最高。

造模后, DSS-3% 组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠体质量均呈下降趋势, DAI 评分均呈上升趋势 (图 1)。给药第 3 天起, DSS-3% 组小鼠出现软便; 第 5 天出现血便; 第 6 天起粪便呈血水样, 小鼠毛色无光泽, 精神萎靡, 与空白组比较 DAI 评分明显升高 ($P < 0.01$)。从开始造模至给药结束, DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠粪便性状无明显变化, DAI 评分与空白组比较均无明显差异 ($P > 0.05$)。给药第 5 天起, 与空白组比较, DSS-3% 组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠的体质量均明显降低 ($P < 0.01$), 第 8 天时 DSS-3% 组小鼠体质量下降更明显, 显著低于 DSS-5 g/kg 和 DSS-6 g/kg 组 (均 $P < 0.01$)。

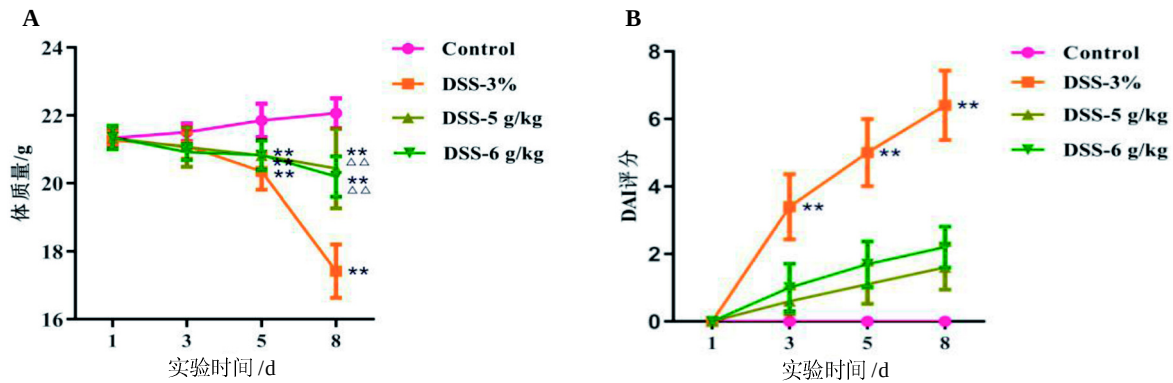
2.2 结肠长度

结肠萎缩是溃疡性结肠炎的一个重要病理特征。本研究发现, DSS-3% 组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠结肠均有不同程度的萎缩, 与空白组比较均明显缩短 (均 $P < 0.01$); DSS-3% 组与 DSS-5 g/kg 组、DSS-6 g/kg 组相比, 小鼠结肠萎缩更明显, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.01$)。见图 2。

表 2 组织病理学评分标准

Table 2 Histopathological scoring criteria				
炎症反应	病变累及深度	隐窝破坏	病变范围 /%	计分
无	无	无	< 1	0
轻度	黏膜下层	基底 1/3 隐窝被破坏	1~25	1
中度	肌层	基底 2/3 隐窝被破坏	26~50	2
重度	浆膜层	全部隐窝被破坏, 但有完整的上皮	51~75	3
—	—	全部隐窝及上皮被破坏	76~100	4

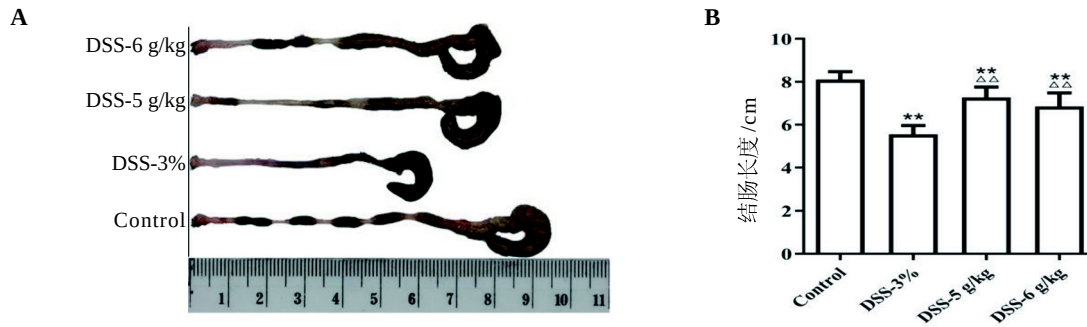
注: 组织病理学评分 = (炎症反应 + 病变深度 + 隐窝破坏) 计分 × 病变范围计分。



注: Control 为空白组, DSS-3% 为 3% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 自由饮用组, DSS-5 g/kg 为 5 g/kg DSS 灌胃组, DSS-6 g/kg 为 6 g/kg DSS 灌胃组。与 Control 比较, $^{**}P < 0.01$; 与 DSS-3% 比较, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

图 1 不同给药方式对小鼠体重 (A) 及 DAI 评分 (B) 的影响

Figure 1 Effects of different administration methods on body weight (A) and DAI score (B) of mice



注: Control 为空白组, DSS-3% 为 3% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 自由饮用组, DSS-5 g/kg 为 5 g/kg DSS 灌胃组, DSS-6 g/kg 为 6 g/kg DSS 灌胃组。与 Control 比较, $^{**}P < 0.01$; 与 DSS-3% 比较, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

图 2 不同给药方式对小鼠结肠形态 (A) 及结肠长度 (B) 的影响

Figure 2 Effect of different administration methods on colon morphology (A) and colon length (B) of mice

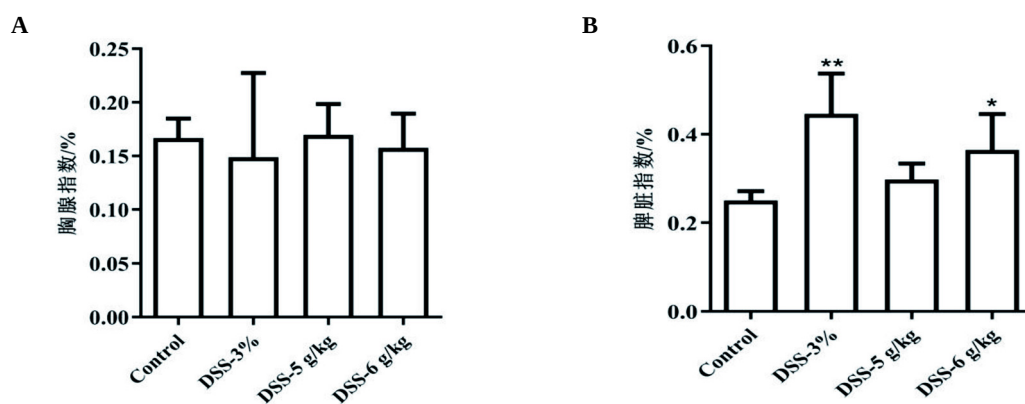
2.3 免疫器官指数

免疫器官指数可以反映机体的炎症反应水平, 而 DSS 诱导的溃疡性结肠炎可降低小鼠胸腺指数, 增加脾脏指数^[12-13]。本实验结果表明, 与空白组相比, DSS-3% 组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组之间小鼠胸腺指数差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 但 DSS-3% 组和 DSS-6 g/kg 组的小鼠胸腺指数均有所下降; 与空白组相比, DSS-3% 组和 DSS-6 g/kg 组的小鼠脾脏指数均明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中自由饮用组升高更为明显; DSS-5 g/kg 组的小鼠脾脏指数虽有升高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

2.4 组织病理学

HE 染色结果显示, 空白组小鼠的结肠组织

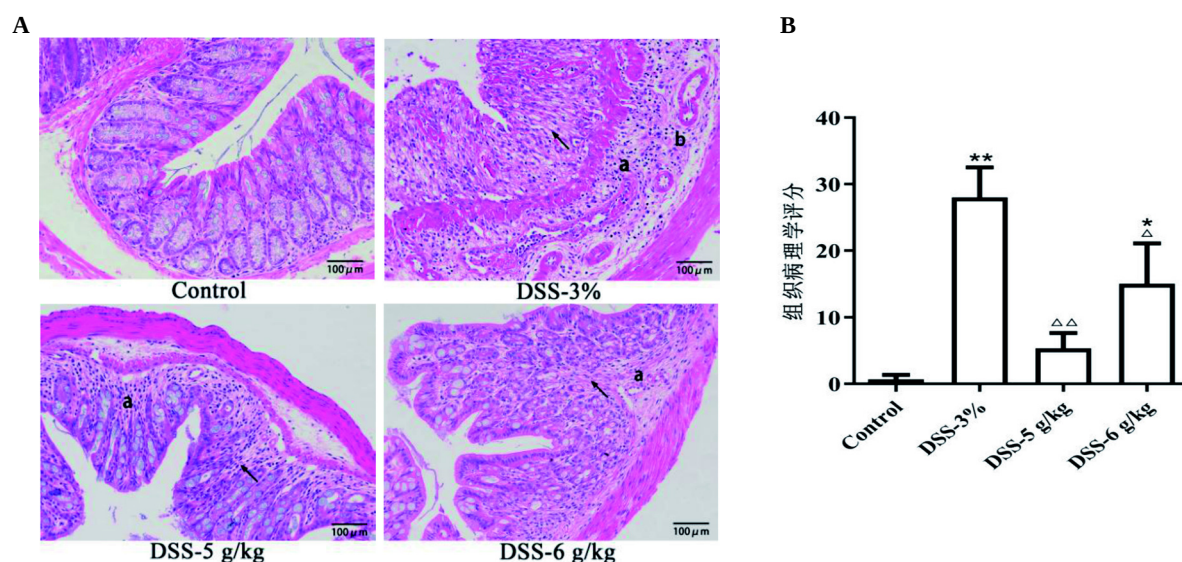
黏膜上皮完整, 腺体排列整齐, 隐窝结构正常, 无炎性细胞浸润; DSS-3% 组小鼠的结肠组织黏膜上皮严重缺损, 大量腺体破坏, 隐窝结构消失, 黏膜下层水肿, 并伴有大量炎性细胞浸润。与空白组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠相比, DSS-3% 组小鼠的结肠组织病理学评分均明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠的结肠组织黏膜上皮基本完整, 部分腺体及隐窝结构变形破坏, 黏膜下层有较多炎性细胞浸润。与空白组相比, DSS-6 g/kg 组小鼠的结肠组织病理学评分明显升高 ($P < 0.05$), 而 DSS-5g/kg 组虽有所升高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4。



注: Control 为空白组, DSS-3% 为 3% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 自由饮用组, DSS-5 g/kg 为 5 g/kg DSS 灌胃组, DSS-6 g/kg 为 6 g/kg DSS 灌胃组。* 与 Control 比较, $P < 0.05$; ** 与 Control 比较, $P < 0.01$ 。

图 3 不同给药方式对小鼠胸腺指数 (A) 及脾脏指数 (B) 的影响

Figure 3 Effects of different administration methods on thymus index (A) and spleen index (B) of mice



注: Control 为空白组, DSS-3% 为 3% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 自由饮用组, DSS-5 g/kg 为 5 g/kg DSS 灌胃组, DSS-6 g/kg 为 6 g/kg DSS 灌胃组。与 Control 比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; 与 DSS-3% 比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。a 示炎性细胞浸润, b 示黏膜下水肿, $\rightarrow$ 示腺体及隐窝破坏。

图 4 不同给药方式对小鼠结肠组织病理形态学 (A) 和组织病理学评分 (B) 的影响 (HE, $\times 200$)

Figure 4 Effects of different administration methods on histopathomorphology (A) and histopathological score (B) of colon tissue in mice (HE, $\times 200$)

3 讨论

溃疡性结肠炎是消化系统的一种慢性炎症反应, 其发病因素复杂, 可能与环境、免疫、肠道菌群及患者精神状况等有一定的关系^[14-15]。近年来, 溃疡性结肠炎在亚洲的发病率普遍上升,

且趋于年轻化。溃疡性结肠炎一旦发病, 难以治愈, 大部分患者均需终生用药治疗, 工作和生活均受到严重的影响^[16]。目前, 临床上针对溃疡性结肠炎一般采用美沙拉嗪口服联合栓剂给药治疗, 严重者可选用肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 抑制剂 (如英夫利昔等)

进行治疗, 但仍有超过 40% 的患者对 TNF- α 抑制剂抵抗^[17-18]。因此, 治疗溃疡性结肠炎的药物治疗尤为迫切, 而建立一个稳定成熟的实验动物模型是溃疡性结肠炎药物研究的基础。

目前, 建立溃疡性结肠炎动物模型的方法主要有化学刺激法、免疫法、基因修饰法等^[19-20]。其中, 化学刺激法中以乙酸、DSS 和三硝基苯磺酸最为常见; 免疫法中以胎鼠结肠种植、大鼠结肠细菌菌株移植和结肠黏膜组织致敏为主; 基因修饰则主要是采用现代技术对特定基因敲除而引发溃疡性结肠炎。由于免疫法对环境和操作技术的要求严格, 成功率较低, 而基因修饰法价格昂贵, 因此以往研究仍以化学刺激法居多。然而, 乙酸建立的溃疡性结肠炎模型在发病机制上与人类差异很大; 三硝基苯磺酸建立的溃疡性结肠炎模型的免疫反应以辅助性 T 细胞 1 (T helper-cells 1, Th1) /Th17 为主, 更适合克罗恩病的研究。通过控制 DSS 的不同给药浓度和给药周期能够建立稳定的急性或慢性溃疡性结肠炎模型, 且其引起的免疫反应和病理表现症状与人类相似。由于 DSS 给药多采用自由饮水的方式, 小鼠饮水量的差异会影响到造模效果的均一性, 因此本课题组尝试通过 DSS 灌胃的方式来建立更稳定、均一的急性溃疡性结肠炎小鼠模型。

DAI 评分和结肠组织病理学变化是溃疡性结肠炎模型建立成功的金标准^[21-22]。实验结果显示, 与空白组相比, DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠的 DAI 评分均无明显差异 (均 $P > 0.05$); 而 DSS-3% 组小鼠自第 3 天起, DAI 评分就明显升高 ($P < 0.01$); 与空白组相比, DSS-3% 组、DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠的结肠长度虽都明显缩短 (均 $P < 0.01$), 但 DSS-3% 组与 DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组相比缩短更为明显 (均 $P < 0.01$)。从组织病理学观察也可看出, DSS-3% 组小鼠的溃疡性结肠炎病理表现较 DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠更为明显。连续 7 d 灌胃给予小鼠 5 g/kg 或 6 g/kg DSS, 总摄入量分别为 35 mg/g 与 42 mg/g, 已达到溃疡性结肠炎成模所需的最低摄入量 (30 mg/g), 但仍不能建立稳定的溃疡性结肠炎模型; 而连续 7 d 自由饮用 3% DSS, 摄入量为 39.75 mg/g, 虽不

及 6 g/kg DSS 灌胃组, 但可成功建立稳定的溃疡性结肠炎模型。

此外, 本研究发现 DSS-3% 组小鼠造模期间出现的体质量减轻、黏液脓血便、结肠缩短及组织病理学变化均与临床上的溃疡性结肠炎患者症状具有相似性, 而且胸腺萎缩, 说明小鼠免疫功能受到该造模方法的影响, 这与以往文献报告^[23-24]一致。而 DSS-5 g/kg 组和 DSS-6 g/kg 组小鼠在给药过程中并未出现黏液脓血便, 胸腺也未受到影响; 这一结果与衡宇等^[9]的研究结果不一致。衡宇等^[9]研究表明, 4 g/kg 灌胃组部分小鼠于第 5 天时出现肉眼血便, 第 8 天时出现血水样便; 而本研究发现, 3% DSS 自由饮用组造模第 5 天时全部出现肉眼血便, 第 6 天转为黏液脓血便, 同时伴随饮食量和饮水量下降, 毛色无光泽。Thorsten 等^[6]研究 DSS 摄入量与溃疡性结肠炎模型的关系时也发现, 7 d 内小鼠摄入 DSS 量超过 30 mg/g 才能建立有效的溃疡性结肠炎模型, 而 4 g/kg DSS 灌胃量持续 7 d 并不能达到造模明显的有效剂量。由于研究目的不同, 灌胃建立轻微病变的溃疡性结肠炎模型也可能满足部分实验要求。

总之, 本研究采用 5 g/kg 和 6 g/kg DSS 的灌胃剂量仍然没有建立明显的溃疡性结肠炎模型。这可能是由于自由饮用 DSS 组小鼠为缓慢持久摄入, 可起到长久刺激机体的作用; 而灌胃组小鼠给药后药物代谢速度快, 刺激时间短, 故给药量虽大, 但作用时间短。因此, DSS 灌胃造模的效果不及自由饮用法。此外, 小鼠种属和体质量等因素也可能影响造模结果^[25]。后续本课题组将尝试每天少量多次灌胃 DSS 溶液来做对照研究, 以期建立更稳定、均一的模型。

参考文献:

- [1] YUAN Z W, YANG L H, ZHANG X S, et al. Huang-Lian-Jie-Du Decoction ameliorates acute ulcerative colitis in mice via regulating NF- κ B and Nrf2 signaling pathways and enhancing intestinal barrier function[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:1354. DOI:10.3389/fphar.2019.01354.
- [2] WANG R, LUO Y Z, LU Y D, et al. Maggot extracts alleviate inflammation and oxidative stress in acute experimental colitis via the activation of Nrf2[J]. Oxid Med Cell Longev,

- 2019, 2019:4703253. DOI:10.1155/2019/4703253.
- [3] ADAMS S M, BORNEMANN P H. Ulcerative colitis[J]. *Am Fam Physician*, 2013, 87(10):699-705.
- [4] WU Y, SUN M H, WANG D, et al. A PepT1 mediated medicinal nano-system for targeted delivery of cyclosporine A to alleviate acute severe ulcerative colitis[J]. *Biomater Sci*, 2019, 7(10):4299-4309. DOI:10.1039/c9bm00925f.
- [5] 赵亚娇, 王雪明, 苏丽, 等. 复方血竭制剂对远端型溃疡性结肠炎小鼠肺、肠白介素-6表达的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(21):3352-3360. DOI:10.11569/wcjd.v23.i21.3352.
- [6] VOWINKEL T, KALOGERIS T J, MORI M, et al. Impact of dextran sulfate sodium load on the severity of inflammation in experimental colitis[J]. *Dig Dis Sci*, 2004, 49(4):556-564. DOI:10.1023/b:ddas.0000026298.72088.f7.
- [7] 崔国宁, 刘喜平, 董俊刚, 等. 溃疡性结肠炎模型建立方法研究进展[J]. *今日药学*, 2018, 28(4):280-284. DOI:10.12048/j.issn.1674-229X.2018.04.018.
- [8] 陈素傲, 金世柱. 葡聚糖硫酸钠诱导鼠溃疡性结肠炎模型研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(4):142-146. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.022.
- [9] 衡宇, 李晰, 孙涛, 等. 葡聚糖硫酸钠自由饮用与灌胃诱导小鼠溃疡性结肠炎模型的对比研究[J]. *中国药师*, 2017, 20(4):603-606. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2017.04.002.
- [10] WANG J, TIAN M, LI W, et al. Preventative delivery of IL-35 by *Lactococcus lactis* ameliorates DSS-induced colitis in mice[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(19):7931-7941. DOI:10.1007/s00253-019-10094-9.
- [11] SAW T Y, MALIK N A, LIM K P, et al. Oral supplementation of tocotrienol-rich fraction alleviates severity of ulcerative colitis in mice[J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2019, 65(4):318-327. DOI:10.3177/jnsv.65.318.
- [12] POSTOVALOVA E A, MAKAROVA O V, KOSYREVA A M, et al. Morphology of the Thymus and the specific features of its cellular composition in experimental acute and chronic ulcerative colitis[J]. *Arkh Patol*, 2019, 81(5):53-63. DOI:10.17116/patol20198105153.
- [13] ZU M H, SONG H L, ZHANG J B, et al. Lycium barbarum lipid-based edible nanoparticles protect against experimental colitis[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 187:110747. DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.110747.
- [14] ALIMOHAMMADI N, KOOSHA F, RAFEIAN-KOPAEI M. Current, new and future therapeutic targets in inflammatory bowel disease: a systematic review[J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(22):2668-2675. DOI:10.2174/1381612826666200406081920.
- [15] 鲁香凤, 张书信, 傅丽元, 等. 人溃疡性结肠炎与小鼠模型的组织病理学变化比较及机制探讨[J]. *中国实验动物学报*, 2018, 26(5):597-602. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.05.010.
- [16] MINAKSHI P, KUMAR R, GHOSH M, et al. Application of polymeric nano-materials in management of inflammatory bowel disease[J]. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20(11):982-1008. DOI:10.2174/1568026620666200320113322.
- [17] KATO S, ISHIBASHI A, KANI K, et al. Optimized management of ulcerative proctitis: when and how to use mesalazine suppository[J]. *Digestion*, 2018, 97(1):59-63. DOI:10.1159/000484224.
- [18] LOPETUSO L R, GERARDI V, PAPA V, et al. Can we predict the efficacy of anti-TNF- α agents?[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9). DOI:10.3390/ijms18091973.
- [19] 曹明泽, 王旭荣, 王磊, 等. 小鼠溃疡性结肠炎模型的建立与评价[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(1):171-175. DOI:10.16431/j.cnki.1671-7236.2016.01.025.
- [20] 何育佩, 杜正彩, 侯小涛, 等. 溃疡性结肠炎动物模型研究进展[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(2):423-433. DOI:10.11842/wst.20190102006.
- [21] DEROCHE T C, XIAO S Y, LIU X. Histological evaluation in ulcerative colitis[J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2014, 2(3):178-192. DOI:10.1093/gastro/gou031.
- [22] QIU X Y, LI X, WU Z, et al. Fungal - bacterial interactions in mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute and chronic colitis[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(70):65995-66006. DOI:10.1039/c6ra03869g.
- [23] SUN J, CHEN H, KAN J, et al. Anti-inflammatory properties and gut microbiota modulation of an alkali-soluble polysaccharide from purple sweet potato in DSS-induced colitis mice[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153:708-722. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.053.
- [24] ZENG L, TAN J, XUE M, et al. An engineering probiotic producing defensin-5 ameliorating dextran sodium sulfate-induced mice colitis via Inhibiting NF- κ B pathway[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1):107. DOI:10.1186/s12967-020-02272-5.
- [25] 赵珊, 王鹏程, 王秋红, 等. 小鼠葡聚糖硫酸钠急性溃疡性结肠炎模型的建立和评价[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(2):42-45. DOI:10.13194/j.issn.1673-842x.2016.02.014.

(收稿日期: 2020-06-29 修回日期: 2020-08-03)

雌性侏儒症大鼠繁殖性能初探

焦淑凡, 徐龙妹, 华征宇, 姚菊芳

(上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海 200127)

[摘要] 目的 初步探讨自发侏儒症 Wistar 大鼠 (spontaneous dwarfism Wistar rat, SDWR) 的繁殖性能及其低下的原因。方法 SDWR 大鼠组和 Wistar 大鼠对照组分别选 12 周龄雌鼠及雄鼠各 50 只, 按 1 ♀: 1 ♂ 进行交配, 测定 SDWR、Wistar 大鼠第 1~4 胎妊娠率、窝产仔数、初生窝重、离乳率、离乳重; 选取 8 周龄雌性 SDWR 大鼠和 5 周龄雌性 Wistar 大鼠各 20 只, 阴道脱落细胞涂片法评估两组大鼠性成熟期及动情周期; 6~8 周龄雌性 SDWR 及 Wistar 大鼠各 20 只, 分别采用 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg 剂量的孕马血清促性腺激素 + 人绒毛膜促性腺激素腹腔注射进行超排卵实验, 比较促排卵效果; 6~8 周龄 Wistar、SDWR 及 SDWR 超排卵组各 20 只, 通过 HE 染色分析比较卵巢组织形态改变。结果 SDWR 组 1~4 胎妊娠率、窝产仔数、初生窝重、离乳重及离乳率显著低于 Wistar 组 ($P < 0.05$); SDWR 组性成熟[(12.15 ± 0.81) 周]比 Wistar [(8.05 ± 0.76) 周]明显推迟; Wistar 组保持 4~5 d 规律的动情周期, 而 SDWR 出现动情周期延长及紊乱, 7~8 d 一个周期, 动情期缩短, 动情间期延长; 超排结果显示: SDWR 组卵细胞数量均显著少于 Wistar 组 ($P < 0.01$)。卵巢组织 HE 染色结果显示, Wistar 组卵巢各级卵泡生长活跃, 颗粒细胞及黄体结构正常, 而 SDWR 组卵巢总卵泡及各级卵泡数量均明显减少, 卵巢皮质纤维化, 颗粒细胞排列紊乱。结论 侏儒症 SDWR 大鼠繁殖率低下可能与性成熟晚、动情周期延长及紊乱、卵巢功能减退有关。

[关键词] 侏儒症大鼠; 繁殖性能; 动情周期; 卵巢功能

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0040-06

Preliminary Probing for Reproductive Performance in Female Dwarfism Rats

JIAO Shufan, XU Longmei, HUA Zhengyu, YAO Jufang

(Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China)

Correspondence to: YAO Jufang, E-mail: yaoshirley@163.com

[Abstract] **Objective** To probe the causes of low reproductive performance in spontaneous dwarfism Wistar rats (SDWR). **Methods** A Wistar rat control group and a SDWR group both included 50 female and 50 male rats aged 12 weeks respectively, and were mated 1 : 1 (male to female); the pregnancy rate, litter size, litter birth weight, weaning rate and weaning weight of the SDWR and Wistar rats were measured from the first parity to the fourth. Twenty female SDWR aged 8 weeks and 20 female Wistar rats aged 5 weeks were selected respectively to evaluate puberty and estrous cycle by vaginal cytology. Twenty female SDWR and 20 female Wistar rats aged 6-8 weeks were respectively injected intraperitoneally with 200 U/kg, 300 U/kg and 400 U/kg of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) plus human chorionic gonadotropin (hCG) for superovulation, and the ovulation induction effects. Twenty Wistar, 20 SDWR and 20 SDWR superovulation rats aged 6-8 weeks were compared in morphological changes of ovarian tissue by HE staining. **Results** The pregnancy rate, litter size, litter birth weight, weaning weight and weaning rate of the first parity to the fourth of the SDWR group were significantly lower than those of the Wistar group ($P < 0.05$). In the SDWR group, sexual maturation [(12.15 ± 0.81) weeks] was significantly delayed compared

[基金项目] 上海市科学技术委员会科研计划项目(18140900301)

[作者简介] 焦淑凡(1986—), 女, 实习研究员, 主要从事实验动物和动物实验管理和研究。E-mail: jiaoshufan@163.com

[通信作者] 姚菊芳(1964—), 女, 副主任技师, 主要从事实验动物和动物实验管理和研究。E-mail: yaoshirley@163.com

with the Wistar group $[(8.05 \pm 0.76) \text{ weeks}]$. The Wistar group maintained a regular estrous cycle of 4-5 days, while the SDWR group showed an extended and disordered estrous cycle of 7-8 days, shortened estrous and extended metestrus. The results of superovulation test showed that the number of eggs in the SDWR group was significantly lower than that in the Wistar group ($P < 0.01$). The results of HE staining of ovarian tissue showed that in the Wistar group, follicles at all levels were growing actively, and granular cells and corpus luteum structure were normal; while in the SDWR group, the number of total ovarian follicles and follicles at all levels were significantly reduced, and granular cells was disarranged. **Conclusion** The low reproductive rate of SDWR may be related to delayed sexual maturity, prolonged and disordered estrous cycle, and ovarian dysfunction.

[Key words] Dwarfism rats; Reproductive performance; Estrous cycle; Ovarian dysfunction

本课题组在 Wistar 大鼠长期的繁育过程中偶然发现与同龄、同性别个体相比体型显著矮小的大鼠，经“全同胞兄妹交配”培育成近交品系，并将其命名为 SDWR，即自发性侏儒症 Wistar 大鼠 (spontaneous dwarfism Wistar rat)^[1]。至 2020 年 9 月，SDWR 大鼠已稳定连续近交达 34 代。在针对 SDWR 大鼠的长期研究过程中发现，与 Wistar 大鼠相比，侏儒症大鼠产仔数、窝重和离乳率均明显降低，并伴随一定比例的不育现象，说明 SDWR 存在生育下降的问题。近年来，不孕不育患者呈逐渐上升的趋势，成为社会关注的焦点，其治疗也是生殖医学的重点和难点。卵巢功能衰退是临床常见导致生育能力下降的原因之一，其病因复杂，与遗传、感染、代谢、免疫、环境、手术、药物和心理等多种因素有关^[2-3]。笔者推测 SDWR 繁殖率低下可能与卵巢功能有密切关联。本文通过探索 SDWR 大鼠低繁殖率的原因，期望对人类生育力低及不孕不育的研究和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SDWR 大鼠选自本课题组培育第 30 代的侏儒症大鼠 (SDWR 组)。正常封闭群 Wistar 大鼠 (作为对照组) 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司 [SCXK (沪) 2017-0005]。所有大鼠饲养于上海交通大学医学院附属仁济医院屏障设施 +IVC [SYXK (沪) 2016-0009]。

1.2 药物、试剂与仪器

孕马血清促性腺激素 (pregnant mare serum gonadotrophin, PMSG) (宁波第二激素厂)，

批号 S18080，1 000 U 冻干粉；人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotrophin, hCG) (丽珠集团丽珠制药厂)，批号 171113，2 000 U 冻干粉；M2 培养液和透明质酸酶 (美国 Sigma 公司)；HE 染色试剂盒 (北京索宝生物科技有限公司)。石蜡包埋机 (EG1150)、石蜡切片机 (RM2235)、体视显微镜 (DMi8) 和正置生物显微镜 (DM2500) 均购自德国 Leica 公司。

1.3 检测方法

1.3.1 繁殖性能的比较

选择 12 周龄 SDWR 及 Wistar 雌鼠、雄鼠各 50 只进行繁殖实验。按 1 ♀ : 1 ♂ 长期同居，确定妊娠时将雌性孕鼠分笼饲养，统计 SDWR 及 Wistar 大鼠 1~4 胎繁殖情况。通过妊娠率、产仔率、初生窝重、离乳重、离乳率比较分析二者繁殖性能。

1.3.2 性成熟期及动情期观察

选择 SDWR 及 Wistar 雌鼠各 20 只，其中 SDWR 大鼠 8 周龄 (繁育过程观察其性成熟在 12 周左右)，Wistar 大鼠 5 周龄 (性成熟在 6~8 周左右)，用于性成熟期及动情周期的观察。在每日 8:00、20:00，分别做阴道脱落细胞涂片，根据涂片中的细胞形态，判断大鼠所处的性周期阶段，连续观察出现 2 个完整的动情周期。正常雌性大鼠的动情周期为 4~5 d，分为动情前期、动情期、动情后期、动情间期。当第一次出现完整的动情周期，并观察到外阴口变大且伴随红肿、湿润时，可判定为性成熟。阴道脱落细胞涂片方法：用生理盐水 (0.9% NaCl 溶液) 湿润的棉签置入阴道内 1 cm，轻柔旋转 1 圈，取出准备好生理盐水的载玻片，将棉签上脱落细胞均匀地涂抹于载玻片，75% 乙醇溶液固定，HE 染色，盖玻片封固，光学显微镜下观察动情周期^[4]。

1.3.3 超排卵效果观察

选择6~8周龄SDWR及Wistar雌鼠各20只。实验前分别用PBS将PMSG和hCG稀释至200 U/mL, 分别用200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg剂量的PMSG+hCG进行腹腔注射(超排卵组)。PMSG注射48 h后注射hCG, hCG注射后24 h, 用3.5%水合氯醛1 mL/100g腹腔注射麻醉大鼠。酒精棉球消毒腹部, 打开腹腔找到输卵管, 用眼科剪将输卵管取出, 置于含M2培养液的培养皿中。于正置显微镜下找到输卵管膨大部位, 用显微镊子将膨大部撕开, 这时卵母细胞团会自动滑出。用口吸管将卵母细胞团移至透明质酸酶的培养皿中进行消化, 在显微镜下观察卵母细胞团表面颗粒细胞消化情况。当卵母细胞与颗粒细胞发生分离时, 即刻用口吸管将卵母细胞移至新鲜M2培养液中轻柔冲洗6遍。收集卵母细胞至新鲜M2培养液中, 显微镜下计数卵母细胞数量, 比较SDWR与Wistar大鼠的促排卵效果。

1.3.4 卵巢组织形态观察

选择6~8周龄雌鼠, 对照组、SDWR组及

SDWR超排卵组(300 U/kg, PMSG+hCG)各20只, 将各组大鼠卵巢组织置于质量分数为4%的多聚甲醛溶液中固定24 h后, 进行脱水, 透明, 石蜡包埋, 切片(5 μ m)。然后将切片放入60 $^{\circ}$ C烘箱中烤3 h, 脱蜡水化, 流水冲洗1 min, 苏木精染色10 min, 流水冲洗1 min, 伊红染色约1 min, 乙醇溶液梯度脱水, 中性树脂封固, 光学显微镜下观察卵巢组织形态。

1.4 统计学分析

应用SPSS 21.0软件进行统计学分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 繁殖性能比较

结果显示, 1~4胎SDWR组妊娠率、产仔数量、初生窝重、离乳重及离乳率均显著低于对照组Wistar大鼠, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$) (表1)。

表1 SDWR与Wistar大鼠繁殖情况比较

Table 1 Comparison of reproductive performance between SDWR and Wistar rats

大鼠品系	项目	胎次			
		1	2	3	4
Wistar	妊娠率/%	92.6	94.1	96.4	97.3
	窝产仔数/只	11.7 $\pm$ 1.6	12.1 $\pm$ 2.8	11.7 $\pm$ 1.6	11.0 $\pm$ 1.6
	初生窝重/g	63.6 $\pm$ 8.9	64.1 $\pm$ 4.5	54.6 $\pm$ 6.0	56.8 $\pm$ 7.7
	离乳重/g	55.1 $\pm$ 4.8	57.5 $\pm$ 4.8	55.8 $\pm$ 6.0	57.1 $\pm$ 8.0
	离乳率/%	96.5	96.8	95.7	97.7
SDWR	妊娠率/%	60.2**	70.5*	66.4**	39.1**
	窝产仔数/只	3.2 $\pm$ 1.0**	4.3 $\pm$ 1.2**	4.0 $\pm$ 1.3**	3.5 $\pm$ 1.2**
	初生窝重/g	21.5 $\pm$ 5.6**	24.8 $\pm$ 2.3*	24.2 $\pm$ 3.8**	21.9 $\pm$ 5.4**
	离乳重/g	19.5 $\pm$ 3.7**	19.6 $\pm$ 3.0	19.7 $\pm$ 2.7**	20.5 $\pm$ 3.0**
	离乳率/%	57.6**	67.5**	61.1**	59.5**

注: SDWR即自发侏儒症Wistar大鼠; 与Wistar大鼠比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

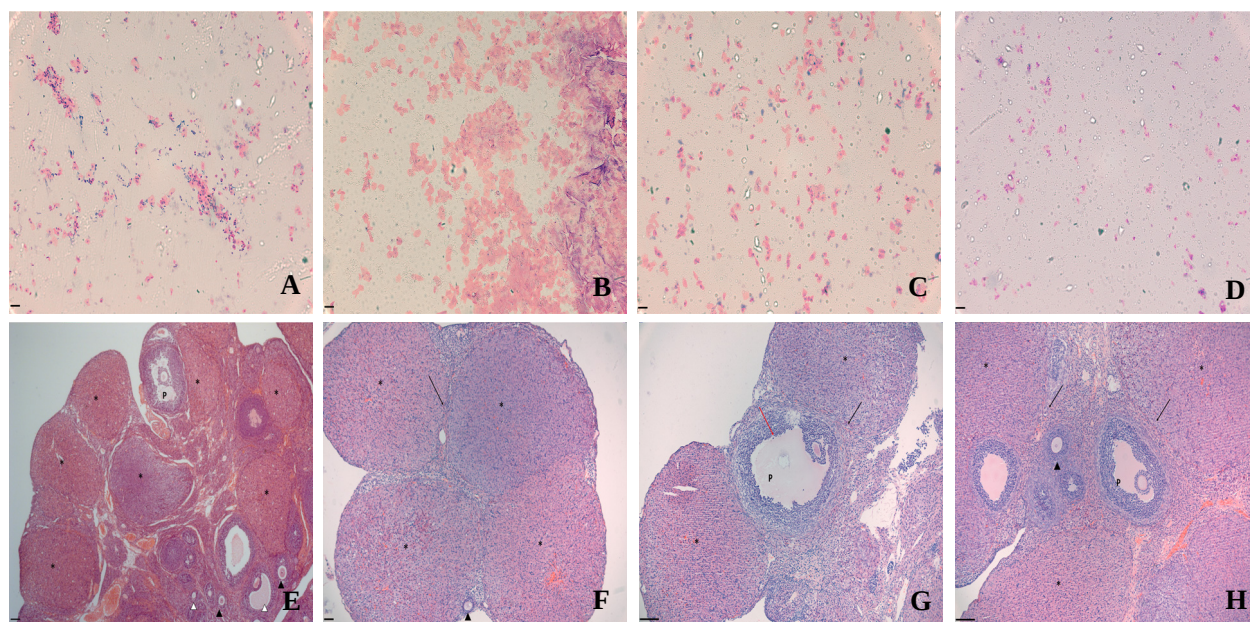
2.2 性成熟期及动情周期比较

阴道脱落细胞涂片观察动情周期结果显示, SDWR和Wistar大鼠均出现完整的动情周期, 对照组Wistar大鼠出现完整动情周期在(8.05 $\pm$ 0.76)周龄, 而SDWR大鼠在(12.15 $\pm$ 0.81)周龄, 说明SDWR大鼠性成熟时间与Wistar大鼠相比明显推迟($P < 0.01$)。

涂片观察可见, 动情前期以膨大有核上皮细胞为主, 可见少量白细胞及无核角化上皮细胞(图1A); 动情期以大量的无核角化上皮细胞为主, 可聚集成堆(图1B); 动情后期白细胞、无核角化上皮细胞和有核上皮细胞均可见(图1C); 动情间期细胞总数较少, 以白细胞为主, 可见少量角化上皮细胞及有核上皮细胞(图

1D)。另外,实验发现对照组 Wistar 大鼠一个规律的动情周期需要 4~5 d;而 SDWR 大鼠一个

动情周期约 7~8 d,且动情期缩短,动情间期延长,提示 SDWR 组大鼠动情周期延长和紊乱。



注: A, 动情前期; B, 动情期; C, 动情后期; D, 动情间期。A~D 图中比例尺为 50 μm 。E, Wistar 组; F~G, SDWR 组; H, SDWR 超排卵组; *, 黄体; $\blacktriangle$, 初级卵泡; $\triangle$, 次级卵泡; P, 窦状卵泡; 红色箭头, 颗粒细胞层排列紊乱; 黑色箭头, 卵巢皮质纤维化。H~E 图中比例尺大小为 200 μm 。

图 1 阴道脱落细胞涂片染色结果 (A~D) 和各组卵巢组织学观察 (H~E)

Figure 1 The results of Gram staining of the rat vaginal smears (A-D) and morphological observation of the ovarian tissue in each group (H-E)

2.3 超排卵效果比较

超排卵结果显示, 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg 的 PMSG+hCG 在 SDWR 大鼠中均获得极低的超排效果。200 U/kg、300 U/kg 和 400 U/kg PMSG+hCG 注射后 SDWR 大鼠平均排卵数量分别为 (1.0 ± 1.4) 个、 (1.2 ± 1.62) 个和 (1.6 ± 1.5) 个, 显著低于对照组 Wistar 大鼠的 (42.8 ± 5.0) 个、 (42.2 ± 4.5) 个和 (40.4 ± 4.7) 个。

2.4 卵巢组织形态学观察

对照组 Wistar 大鼠可见生长活跃的各级卵泡, 颗粒细胞层排列整齐, 黄体数量多, 发育良好 (图 1E); SDWR 组大鼠卵巢中未见初级卵泡、次级卵泡, 窦状卵泡黄体数量较对照组 Wistar 大鼠明显减少, 卵巢皮质发生纤维化, 并且颗粒细胞排列紊乱, 提示其可能存在颗粒细胞功能受损, 从而导致卵子发育障碍 (图 1F、

1G)。采用 300 U/kg 的 PMSG+hCG 注射 SDWR 大鼠后, SDWR 超排卵组大鼠卵巢内的各级生长卵泡没有明显增加 (图 1H), 黄体数量较对照组 Wistar 大鼠仍减少, 提示 SDWR 大鼠对 PMSG+hCG 可能不敏感。

3 讨论

本课题在长期研究过程中发现, SDWR 大鼠繁殖力低下, 为探索其原因展开了本研究。通过分析 SDWR 和 Wistar 大鼠繁殖性能发现, Wistar 大鼠 1~4 胎平均窝产仔数 12~14 只, 离乳重 45~50 g, 与文献报道一致^[5]; 而 SDWR 大鼠第 1~4 胎的妊娠率、窝产仔数量、初生窝重、离乳重及离乳率均显著低于 Wistar 大鼠, 说明雌性 SDWR 大鼠繁殖性能比 Wistar 大鼠低下。动情周期检测结果显示, SDWR 大鼠性成熟周龄比

Wistar 大鼠明显推迟, 出现动情周期延长及紊乱。大鼠的动情周期可以间接反映卵巢功能^[6]。因此, 本研究结果提示 SDWR 大鼠卵巢功能可能发生改变。

排卵数量是影响生育力的重要因素。有研究表明, 约 27% 的不孕症由排卵障碍引起^[7]。通过 200 U/kg、300 U/kg、400 U/kg PMSG +hCG 超排卵实验发现, 3 种剂量促排卵效果无明显差异, 结果显示 6~8 周龄对照组 Wistar 大鼠获得良好超排卵效果, 而 SDWR 大鼠极难获取数目较多的卵母细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。为了进一步验证, 作者也曾选取不同厂家的 PMSG (舒生, 批号 180716, 1000 IU) 和 hCG (艾力生, 批号 B190303) 进行实验, 得到同样的超排结果。临床超排卵不敏感的现象称为卵巢低反应 (poor ovarian response, POR)^[8]。SDWR 大鼠繁殖性能测定结果说明, SDWR 大鼠可以自然进行繁育, 未取得良好超排效果可能与激素剂量、用药时间、SDWR 大鼠的动情周期等多因素有关, 有待后续进一步探讨。

目前, 人类卵巢早衰发病率呈上升趋势, 病因不明, 该病可能是导致生育功能减退及不孕不育的重要原因^[9-10]。为了解 SDWR 大鼠卵巢功能对繁殖率的影响, 本研究对 SDWR 大鼠卵巢组织进行病理切片染色, 观察卵巢组织结构及各级卵泡发育状态, 结果显示, SDWR 大鼠窦状及各级卵泡极少见, 卵巢颗粒细胞排列紊乱, 出现卵巢皮质纤维化, 呈现卵巢早衰表现, 提示 SDWR 大鼠卵巢功能损伤及卵巢低反应可能是导致繁殖率低下的原因之一。常见卵巢早衰模型有放化疗药物造模法、免疫损伤造模法、半乳糖代谢造模法、基因敲除造模法等^[11-12], 不同的造模方法根据其独特性适用于不同的实验研究, 具有一定局限性。本研究发现 SDWR 大鼠自身存在卵巢功能低下现象, 因此有可能通过 SDWR 大鼠建立一个适用于多种病因研究的天然卵巢早衰模型。

不孕不育已逐渐成为我国已婚人群的重要疾病之一, 约 7%~15% 的育龄夫妻受其困扰^[13]。据世界卫生组织预测, 不孕不育可能会成为人类继肿瘤、心脑血管疾病之后的第三大顽疾。辅助生殖技术 (assisted reproductive technology,

ART), 是治疗不孕不育的主要手段。尽管 ART 在治疗不孕不育取得显著进展, 但是 POR 始终是其面临的难点和挑战^[14-15]。ART 在体外受精的超控制性促排卵过程中大约有 9%~24% 的患者发生 POR^[16], 尤其在 ≥ 40 岁的高龄女性中发生率超过 50%^[17], 而 POR 具体发病机制尚不明确。目前临床上常用激素替代疗法治疗卵巢早衰, 但可能会引起乳腺癌、心脏病和中风等严重不良反应^[18]。因此, 本实验可能具有临床研究意义, 培育的侏儒症大鼠有望作为研究卵巢早衰及卵巢低反应的天然模型, 为改善卵巢功能及提高生育力研究和治疗提供理论依据。

最近研究揭示, 微 RNA 与卵巢基因表达^[19]、颗粒细胞的发育、卵泡刺激素的分泌有关^[20]。miR-27b、miR-190、miR-151、miR-672、miR-29a 和 miR-144 表达^[21]、BNC1 基因缺失^[22]、COMT 基因 rs4680 位点 A 等位基因及 CpG-8 和 CpG-10 甲基化水平升高都与 POF 的发生发展密切相关^[23]。微 RNA 表达、基因缺失和甲基化是否在 SDWR 大鼠卵巢功能减退中起到重要调节作用, 有待进一步研究。

致谢: 本课题实施和完成阶段得到了上海市计划生育研究所黄先亮医生、上海交通大学医学院附属仁济医院生殖中心厉心愉医生的支持, 谨致谢意。

参考文献:

- [1] 姚菊芳, 华征宇, 王斌, 等. 近交系侏儒大鼠的培育及其主要生物学特性测定[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(4): 295-300, 306. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.04.010.
- [2] TORREALDAY S, KODAMAN P, PAL L. Premature Ovarian Insufficiency: an update on recent advances in understanding and management[J]. F1000Res, 2017, 6: 2069. DOI:10.12688/f1000research.11948.1.
- [3] SVETLANA V, MIOMIRA I, MILINA T, et al. Premature ovarian failure[J]. Srp Arh Celok Lek, 2012, 140(11/12): 806-811. DOI:10.2298/sarh1212806v.
- [4] ANGELIDIS G, DAFIPOULOS K, MESSINI C I, et al. The emerging roles of adiponectin in female reproductive system-associated disorders and pregnancy[J]. Reprod Sci, 2013, 20(8):872-881. DOI:10.1177/1933719112468954.
- [5] 胡樱, 杨斐, 施映霞, 等. SPF级Wistar大鼠生长发育及繁

- 殖性能的主要指标测定[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(1): 1-3. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2003.01.001.
- [6] 罗满林, 顾为望. 实验动物学[M]. 全松, 陈雷宁译. 北京: 中国农业出版社, 2002: 145-149.
- [7] DICKEY R P, BRINDEN P R, PYRZAK R. 宫腔内人工授精与促排卵[M]. 全松, 陈雷宁, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 19-30.
- [8] 郑晨思, 郝鸣昭, 许焕芳, 等. 卵巢低反应的诊断标准及中医治疗方法研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(3):1368-1372.
- [9] 孔知音. 卵巢功能早衰致不孕症的治疗现状及进展研究[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(34):10-11. DOI: 10.16484/j.cnki.issn2095-8803.2019.34.006.
- [10] 董若曦, 朱小丹, 樊伯珍, 等. 不同剂量顺铂腹腔注射建立大鼠化疗损伤性卵巢早衰模型[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(2):104-109. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.02.003.
- [11] 向澜, 姚广涛, 李瑞霞, 等. 卵巢功能早衰动物模型建立方法的研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(5):386-389. DOI:10.11669/j.2015.05.002.
- [12] GOSWAMI D, ARIF A, SAXENA A, et al. Idiopathic primary ovarian insufficiency: A study of serial hormonal profiles to assess ovarian follicular activity[J]. Hum Reprod, 2011, 26(8): 2218-2225. DOI:10.1093/humrep/der174.
- [13] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 369.
- [14] GIANNELOU P, SIMOPOULOU M, GRIGORIADIS S, et al. The conundrum of poor ovarian response: From diagnosis to treatment[J]. Diagnostics, 2020, 10(9):687. DOI:10.3390/diagnostics10090687.
- [15] DRAKOPOULOS P, BARDHI E, BOUDRY L, et al. Update on the management of poor ovarian response in IVF: The shift from Bologna criteria to the *Poseidon* concept [J]. Ther Adv Reprod Health, 2020, 14: 2633494120941480. DOI:10.1177/2633494120941480.
- [16] POLYZOS N P, DEVROEY P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: Is there any light at the end of the tunnel?[J]. Fertil Steril, 2011, 96(5):1058-1061.e7. DOI:10.1016/j.fertnstert.2011.09.048.
- [17] REVELLI A, BIASONI V, GENNARELLI G, et al. IVF results in patients with very low serum AMH are significantly affected by chronological age[J]. J Assist Reprod Genet, 2016, 33(5):603-609. DOI:10.1007/s10815-016-0675-7.
- [18] ZHANG J H, HUANG X X, LIU Y F, et al. A comparison of the effects of Chinese non-pharmaceutical therapies for premature ovarian failure[J]. Medicine, 2020, 99(26): e20958. DOI:10.1097/md.00000000000020958.
- [19] 宋莹, 吕春梅, 王娇, 等. MicroRNA 与卵巢功能关系的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2017, 23(6): 645-648. DOI: 10.16695/j.cnki.1006-2947.2017.06.026.
- [20] 鄢雯影, 李蓉, 汤彪. MicroRNAs 在卵巢功能中的调节作用[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(5):558-560. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2020.05.045.
- [21] KUANG H X, HAN D W, XIE J M, et al. Profiling of differentially expressed microRNAs in premature ovarian failure in an animal model[J]. Gynecol Endocrinol, 2014, 30(1):57-61. DOI:10.3109/09513590.2013.850659.
- [22] CHEN Z, CHEN H, YUAN K, et al. A 15q25.2 microdeletion phenotype for premature ovarian failure in a Chinese girl: A case report and review of literature[J]. BMC Med Genomics, 2020, 13(1):126. DOI:10.1186/s12920-020-00787-w.
- [23] 陈丽平, 刘丹, 梁辉标, 等. 儿茶酚-O-甲基转移酶基因功能区单核苷酸多态性及甲基化水平与卵巢早衰的相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2019, 40(3):432-436. DOI:10.7652/yxb201903017.

(收稿日期: 2020-10-15 修回日期: 2020-12-15)

致谢本刊支持单位

广东省实验动物监测所	南方医科大学实验动物中心	广州中医药大学实验动物中心
苏州大学动物实验中心	大连医科大学实验动物中心	西安交通大学医学院实验动物中心
上海西普尔-必凯实验动物有限公司	新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心	山东省实验动物中心
上海交通大学医学院实验动物科学部	扬州大学比较医学中心	浙江中医药大学动物实验研究中心
广东省医学实验动物中心	浙江省实验动物中心	海军军医大学实验动物中心
上海斯莱克实验动物有限责任公司	河南省实验动物中心	哈尔滨兽医研究所
中国科学院上海药物研究所实验动物室	南通大学实验动物中心	杭州师范大学实验动物中心
上海市实验动物质量监督检验站	复旦大学药学院	华南农业大学实验动物中心

(排名不分先后)

《实验动物与比较医学》编辑部

痰热清注射液的安全药理学动物实验评价

胡俊^{1*}, 张小利^{2*}, 杨春¹, 陆锦遥¹, 王琼¹, 谷颖敏¹, 谢家骏¹, 张超超^{1,3#}, 田雪松^{1#}

(1. 上海中医药大学创新中药研究院, 上海 201203; 2. 上海凯宝药业股份有限公司, 上海 201401; 3. 上海中医药大学实验动物中心, 上海 201203)

[摘要] 目的 观察痰热清注射液对 Beagle 犬心血管系统、呼吸系统及 ICR 小鼠中枢神经系统的影响, 为其临床用药提供安全性实验数据。方法 24 只 Beagle 犬雌雄各半, 按体质量随机分为低剂量 (2.5 mL 原液/kg)、中剂量 (5.0 mL 原液/kg)、高剂量 (10.0 mL 原液/kg) 痰热清注射液组和溶剂对照组, 每组 6 只; 麻醉状态下, 右前肢内侧皮下头静脉推注给药, 测定给药前、给药 40 min 和 80 min, 以及给药后 5、10、20、30、60、90、120、150、180、210 和 240 min 的血压、心率、心电图及呼吸情况。160 只 ICR 小鼠雌雄各半, 其中 60 只按体质量随机分为低剂量 (3.6 mL 原液/kg)、中剂量 (6.25 mL 原液/kg)、高剂量 (12.5 mL 原液/kg) 痰热清注射液组和溶剂对照、阳性对照组, 尾静脉注射给药后观察小鼠一般行为和自发活动; 对 50 只同样分组的小鼠, 测定给药后不同时间点的协调运动情况; 对另外 50 只同样分组的小鼠, 测定给药后阈下睡眠剂量戊巴比妥钠的协同作用。结果 痰热清注射液各剂量组与相同时间点的溶剂对照组及自身给药前相比, Beagle 犬的收缩压、平均动脉压、心电图及呼吸频率的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 个别时间点的舒张压和心率差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但未见明显的剂量或时效相关性。给药后高剂量组 ICR 小鼠各时间点的自发活动均减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 而协调运动评级在给药后 30、50 及 90 min 均明显增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结论 在本实验条件下, 单次静脉推注痰热清注射液对 Beagle 犬的心血管、呼吸系统无明显影响; 高剂量痰热清注射液对 ICR 小鼠的中枢神经系统有一定影响, 主要表现为自发活动减少, 协调运动障碍, 可能与其主要有效成分熊胆粉相关。

[关键词] 痰热清注射液; 安全药理学; Beagle 犬; 小鼠

[中图分类号] Q95-33; R932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0046-09

Safety Pharmacology Evaluation of Tanreqing Injection by Animal Experiment

HU Jun^{1*}, ZHANG Xiaoli^{2*}, YANG Chun¹, LU Jinyao¹, WANG Qiong¹, GU Yingmin¹, XIE Jiajun¹, ZHANG Chaochao^{1,3#}, TIAN Xuesong^{1#}

(1. Innovation Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Kai Bao Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China; 3. Laboratory Animal Research Center, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

*These two authors contributed equally.

#Correspondence to: ZHANG Chaochao, E-mail: stonezcc@163.com; TIAN Xuesong, E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn

[Abstract] **Objective** To observe the effects of Tanreqing injection on the cardiovascular and respiratory systems in Beagle dogs and the central nervous system in ICR mice, and to provide the animal safety data for its clinical application. **Methods** A total of 24 Beagle dogs (12 males and 12 females) were randomly divided into low dose (2.5 mL stock solution/kg), medium dose (5 mL stock solution/kg), high dose (10 mL

[基金项目] 上海市“科技创新行动计划”生物医药领域科技支撑项目(19401901000)

[作者简介] 胡俊(1986—), 男, 助理实验师, 从事中药毒理学研究。E-mail: hujun19860720@163.com

张小利(1976—), 女, 硕士, 高级工程师, 从事中药新药研发。E-mail: xlzhang_ha@163.com。* 共同第一作者

[通信作者] 张超超(1981—), 男, 硕士, 高级实验师, 从事实验动物研究。E-mail: stonezcc@163.com

田雪松(1973—), 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药毒理及药物安全性评价研究。E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn

共同通信作者

stock solution/kg) Tanreqing injection groups and a solvent control group according to their body weight; there were 6 dogs in each group with intravenous injection at the right cephalic vein of forelimb under anesthesia. Then the blood pressure, heart rate, electrocardiogram and respiration rate were measured before, during at 40 and 80 min, as well as 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 min after administration of Tanreqing injection. A total of 160 ICR mice (half male and female) were selected, and 60 of them were randomly divided into low dose (3.6 mL stock solution/kg), medium dose (6.25 mL stock solution/kg), high dose (12.5 mL stock solution/kg) Tanreqing injection groups, a solvent control and a positive control groups according to their weight, and their general behavior and spontaneous activity were recorded after different doses of Tanreqing injection via the tail vein. The coordinated movement of other 50 mice with the same grouping method were measured at different time points after administration of Tanreqing injection. The synergistic effect of pentobarbital sodium hypnosis at subliminal dosage was tested in the rest of 50 mice with the same grouping method. **Results** Compared with the solvent control group at the same time point or the group itself before administration, there were no significant differences in systolic pressure, mean arterial pressure, electrocardiogram and respiration rate (all $P>0.05$) of the Beagle dogs in the Tanreqing injection groups at different doses; while the diastolic pressure and heart rate at some time points were statistically significant ($P<0.05$ or $P<0.01$), but there was no dose or time dependent effect. The spontaneous activity of the ICR mice was decreased at each time point ($P<0.05$, $P<0.01$ or $P<0.001$), and the coordinated movement grades were increased at 30, 50 and 90 min after high-dose Tanreqing administration ($P<0.05$, $P<0.01$ or $P<0.001$). **Conclusion** No significant effects of Tanreqing injection on the cardiovascular and respiratory systems of Beagle dogs are found after single intravenous injection in this experiment. High-dose Tanreqing injection has certain effects on the central nervous system of mice, mainly reduced spontaneous activity and in coordinated movement, which may be related to bear bile powder, the main active ingredient of Tanreqing injection.

[Key words] Tanreqing injection; Safety pharmacology; Beagle dogs; Mice

痰热清注射液是国家中药二类新药, 配方中以黄芩为君药, 熊胆粉和山羊角为臣药, 金银花为佐药, 连翘为使药; 药少力专, 配伍精当, 具有清热解毒、化痰等功效; 主治上焦湿热毒火、痰热壅阻肺络等证, 对现代医学中肺炎早期、急性支气管炎、慢性支气管炎急性发作及上呼吸道感染属上述证候者的疗效确切^[1-3]。目前, 痰热清注射液亦用于治疗新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19), 同时中国临床试验注册中心批准了“大剂量痰热清注射液治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 真实世界临床研究”(注册号 ChiCTR2000029432) 和“痰热清胶囊治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 临床试验”(注册号 ChiCTR2000029813) 两项临床试验, 以评价痰热清注射液治疗 COVID-19 的有效性及安全性^[4]。

为进一步明确痰热清注射液的安全性, 观察其毒性反应症状, 并探讨不同种属动物对药物毒性反应的差异, 本研究使用 Beagle 犬和 ICR 小鼠

对痰热清注射液进行安全药理学研究再评价, 以期为该药物的临床应用提供安全性评价实验数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

普通级 Beagle 犬 24 只, 雌雄各半, 体质量为 6.4~8.3 kg, 购自上海新冈实验动物场[SCXK (沪) 2012-0009]; 实验犬饲养于上海中医药大学普通级犬房[SYXK (沪) 2014-0008], 环境温度 16~26 °C, 相对湿度 (40~70) %, 换气次数 ≥ 8 次/h, 人工控制照明, 昼夜交替时间为 12 h/12 h。SPF 级 ICR 小鼠 160 只, 雌雄各半, 体质量为 16~18 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司[SCXK (沪) 2013-0016]; 实验鼠饲养于上海中医药大学 SPF 级屏障设施[SYXK (沪) 2014-0008], 环境温度 21~23 °C, 相对湿度 (48~68) %, 换气次数 ≥ 15 次/h, 人工控制照明 (明暗 12 h/12 h)。所有动物实

验方案均经上海中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(编号:SZY201504021)。

1.2 药品与主要试剂

痰热清注射液(棕红色澄明液体,规格10 mL/支,含10%丙二醇作为助溶剂,批号1308317)由上海凯宝药业股份有限公司提供^[2],临用时用氯化钠注射液稀释成所需剂量的溶液(ICR小鼠实验中低、中、高剂量组稀释比例分别为1:6、1:3和1:1,Beagle犬实验中低、中、高剂量组稀释比例分别为1:7、1:3和1:1)。痰热清注射液空白对照液(含10%丙二醇的无色澄明液体,规格10 mL/支,批号1308317)由上海凯宝药业股份有限公司提供,临用时用氯化钠注射液稀释成所需浓度的溶液(ICR小鼠及Beagle犬实验中均按照体积比为1:3稀释)。阳性对照药物地西洋(规格2.5 mg/片,批号14140701)购自上海上药信谊药厂有限公司。戊巴比妥钠(白色粉末,纯度≥98%,批号WS20130112)为德国Merck公司生产,进口分装。上述药品均密封,避光,置于阴凉干燥处保存。

1.3 实验仪器

ME203型电子天平(仪器编号:20131673)为瑞士Mettler Toledo公司产品;YLS-1A多功能小鼠自主活动记录仪(仪器编号:20020620、20061560)为济南益延科技发展有限公司产品;PowerLab 16道生理记录仪(仪器编号:20080750)购自埃德仪器国际贸易(上海)有限公司;AJ-5803型电脑微量注射泵(仪器编号:20101335)购自上海安洁电子有限公司。

1.4 Beagle犬心血管、呼吸系统实验

Beagle犬按体质量分层随机分为4组,每组6只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、痰热清注射液低剂量组、中剂量组和高剂量组。低、中、高剂量组分别经右前肢内侧皮下头静脉电脑微量注射泵推注痰热清注射液2.5 mL原液/kg、5.0 mL原液/kg、10.0 mL原液/kg(每千克动物体质量给药体积为20 mL,每条犬推注80 min,每分钟低于60滴),溶剂对照组经头静脉推注等体积的痰热清注射液空白对照液。给药前实验犬均禁食不禁水过夜。戊巴比妥钠麻醉后记录给药前、给药40 min和80 min,以及给药后5、10、

20、30、60、90、120、150、180、210和240 min的收缩压、舒张压、平均动脉压、心率、心电图(R波振幅、PR间期、QRS波群间期、QT间期及T波振幅),记录呼吸频率和呼吸深度等指标。

1.5 ICR小鼠中枢神经系统实验

1.5.1 观察小鼠一般行为和自发活动次数

ICR小鼠60只,按给药前自发活动次数随机分为5组,每组12只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、阳性对照组和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组。低、中、高剂量组分别经尾静脉注射痰热清注射液3.6 mL原液/kg、6.25 mL原液/kg、12.5 mL原液/kg(每千克动物体质量给药体积为25 mL),阳性对照组灌胃给予地西洋2.0 mg/kg,溶剂对照组经尾静脉注射等体积的痰热清注射液空白对照液。给药前各组小鼠均禁食3~5 h,观察给药后2.0 h内的一般行为变化,如姿态、步态、流涎、流汗、肌颤及瞳孔变化等。用多功能小鼠自主活动记录仪记录给药前及给药后10、30、60、90和120 min小鼠自发活动次数。每次记录前,先将小鼠置于自主活动仪中适应3 min,记录5 min内小鼠的自发活动次数。

1.5.2 测定小鼠协调运动情况

给药前2 d,每日用一根表面光滑、垂直竖立的金属棒(直径1.5 cm,长度80.0 cm),训练小鼠爬竿,3次/d。给药当日,按协调运动障碍评级标准(表1),挑取检疫合格且评分为0.0级的小鼠50只,按体质量随机分为5组,每组10只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、阳性

表1 协调运动障碍评级标准

Table 1 Grades of coordinated movement

级别	评分标准
0.0	一步一步向下爬行
0.5	一步一步向下爬行,向下滑行或跳下的长度<20 cm
1.0	向下滑行
1.5	不能抓住棒,向下滑行的长度<20 cm
2.0	不能抓住棒
2.5	不能抓住棒,翻正迟钝
3.0	翻正反射消失

对照和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组（除给予阳性对照药物地西洋 3.0 mg/kg 外，其余给药方法与剂量同 1.5.1 节）。给药前，各组小鼠禁食 3~5 h，分别于给药前及给药后 10、30、50、90 及 120 min 将小鼠头朝下放在棒的顶端，任小鼠自然向下爬行，以测定协调运动情况。

1.5.3 阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用实验

小鼠 50 只，按体质量随机分为 5 组，每组 10 只，雌雄各半，分别为溶剂对照组、阳性对照和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组（给药方法与剂量同 1.5.2 节）。给药前，各组小鼠禁食 3~5 h，尾静脉注射空白对照液及痰热清注射液后（阳性对照组灌胃 3.0 mg/kg 地西洋后 30 min），小鼠腹腔立即注射戊巴比妥钠 30 mg/kg，以翻正反射消失达 1 min 以上者计为发生睡眠，计算各组睡眠发生百分率。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。Beagle 犬心血管、呼吸系统实验及小鼠自发活动实验结果数据采用方差分析，方差齐时进行单因素方差分析，各剂量组与对照组之间比较采用 LSD-*t* 检验或 SNK-*q* 检验；方差不齐时进行 Kruskal-Wallis 非参数检验，各剂量组与对照组之间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。小鼠协调运动实验结果数据采用秩和检验，

小鼠阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用实验结果数据采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

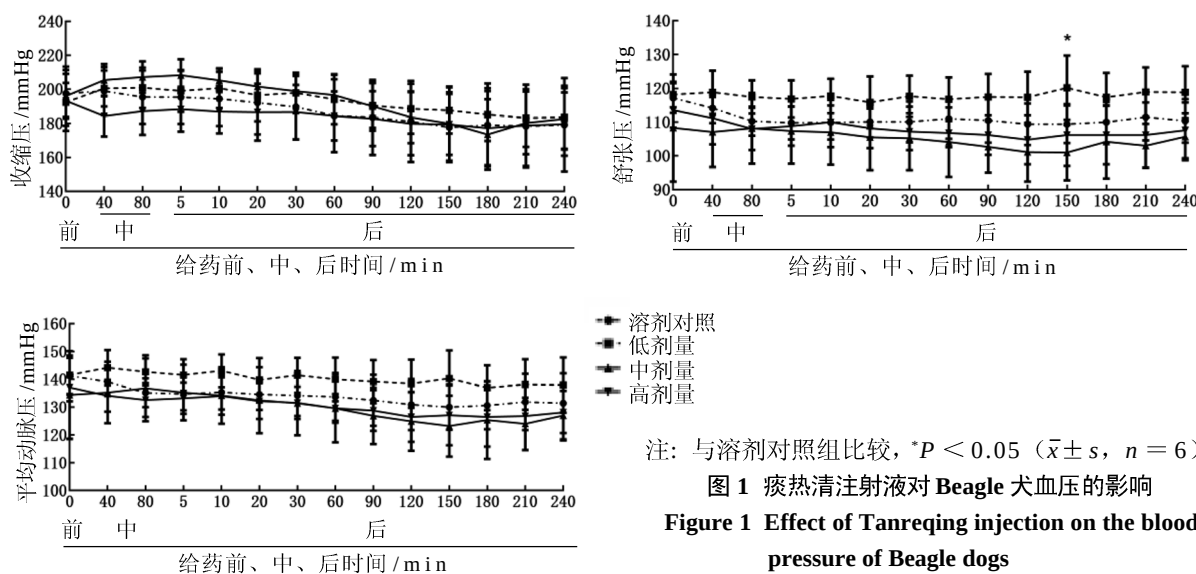
2.1 痰热清注射液对 Beagle 犬心血管系统、呼吸系统的影响

2.1.1 对血压的影响

给药前各组 Beagle 犬的收缩压均值为 192~198 mmHg，舒张压均值为 108~118 mmHg，平均动脉压均值范围在 134~142 mmHg。给药过程中及给药后各剂量组的收缩压、平均动脉压变化不明显，与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比均无明显差异（均 $P > 0.05$ ）。而舒张压在低剂量组给药后 150 min 比溶剂对照组明显升高（ $P < 0.05$ ），但与自身给药前相比无明显差异（ $P > 0.05$ ）；中、高剂量组在给药过程中及给药后，舒张压变化不明显，与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比均无明显差异（均 $P > 0.05$ ）。结果见图 1。

2.1.2 对心率的影响

给药前，各组 Beagle 犬的心率均值范围为 194~218 次/min。给药过程中及给药后随时间推移，各组心率均有一定程度的下降：高剂量组在给药后 10 min、20 min 的心率与对照组相比，



下降明显 (均 $P < 0.05$); 与自身给药前相比, 给药后 180、210 及 240 min 的心率下降明显 (均 $P < 0.05$)。低、中剂量组在给药过程中及给药后心率变化不明显, 与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比, 均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 2。

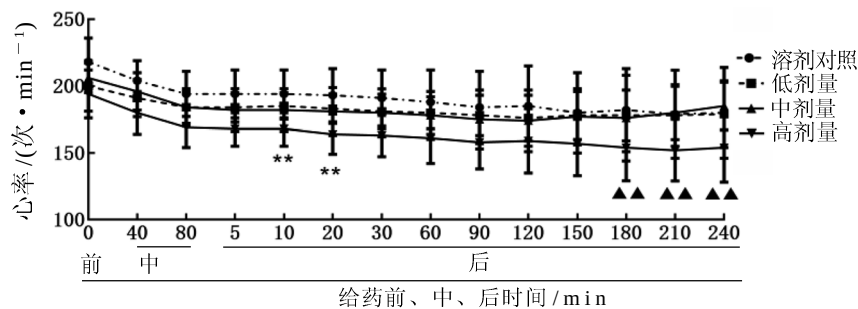
2.1.3 对心电图的影响

给药过程中及给药后, 各组 Beagle 犬心电图

的 R 波振幅、PR 间期、QRS 波群间期、QT 间期及 T 波振幅变化不明显, 与自身给药前或同时间点溶剂对照组相比均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 3。

2.1.4 对呼吸的影响

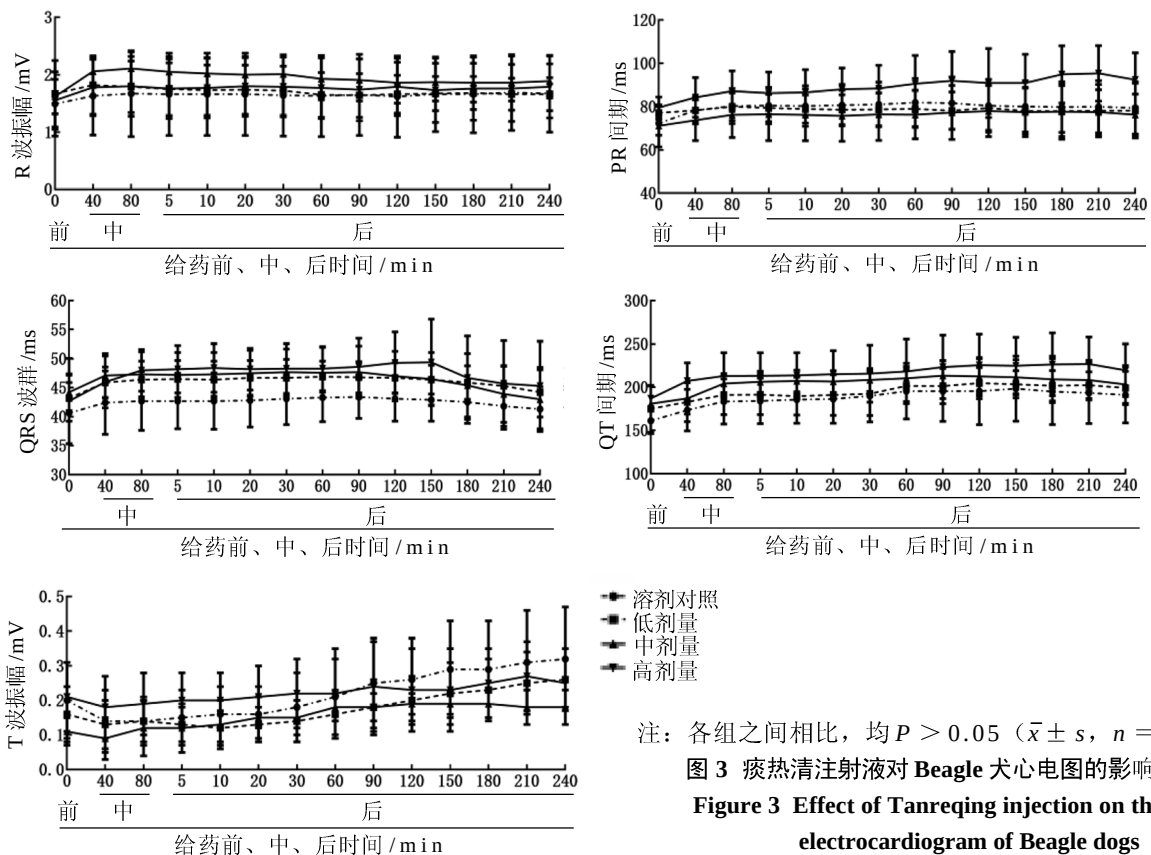
给药前, 各组 Beagle 犬的呼吸频率均值范围为 22~30 次/min, 呼吸深度变化不明显; 给药过程中及给药后, 各剂量组的呼吸频率、呼吸深



注: 与溶剂对照组比较, ** $P < 0.01$; 与自身给药前比较, ▲ $P < 0.01$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 2 痰热清注射液对 Beagle 犬心率的影响

Figure 2 Effect of Tanreqing injection on the heart rate of Beagle dogs



注: 各组之间相比, 均 $P > 0.05$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 3 痰热清注射液对 Beagle 犬心电图的影响

Figure 3 Effect of Tanreqing injection on the electrocardiogram of Beagle dogs

度变化均不明显, 与自身给药前或同时间点溶剂对照组相比均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 4。

2.2 痰热清注射液对 ICR 小鼠中枢神经系统的影响

2.2.1 对一般行为和自发活动的影响

各剂量的痰热清注射液对小鼠姿态、步态、流涎、流汗、肌颤及瞳孔变化等一般行为无明显影响。在自发活动方面, 低剂量组与溶剂对照组在各时间点相比无明显差异 (均 $P > 0.05$)。中剂量组给药后 10 min 自发活动减少, 与溶剂对照组相比有明显差异 ($P < 0.05$), 其余时间点相比无明显差异 ($P > 0.05$)。高剂量组、阳性对照组给药后各时间点小鼠活动均减少, 与溶剂对照组相比均有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结果见表 2。

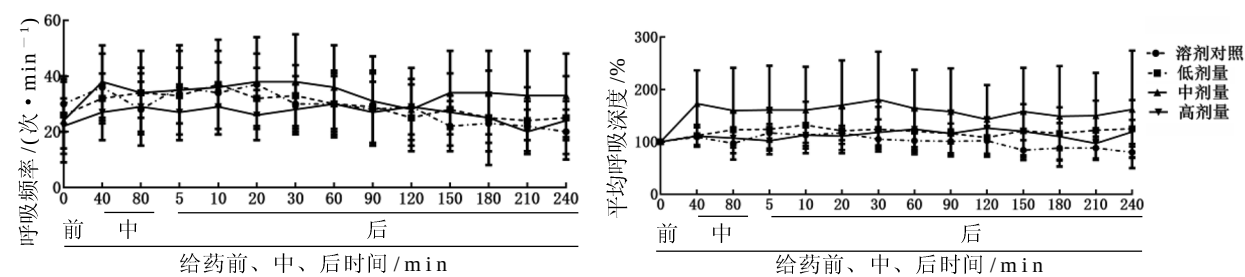
2.2.2 对协调运动的影响

与溶剂对照组相比, 低、中剂量痰热清注

射液对小鼠协调运动无明显影响 (均 $P > 0.05$); 高剂量给药后 30、50 及 90 min 与溶剂对照组相比, 协调运动障碍评级升高, 有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 给药后 120 min 有所恢复 ($P > 0.05$)。与溶剂对照组比较, 阳性对照组小鼠协调运动障碍的评级明显升高, 在给药后各时间点均有极明显差异 ($P < 0.001$)。结果见表 3。

2.2.3 对阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用的影响

溶剂对照组、低剂量和中剂量痰热清注射液组均无小鼠睡眠, 高剂量组 4 只小鼠 (雌雄各半) 睡眠, 睡眠发生的百分率与溶剂对照组相比无明显差异 ($P > 0.05$)。给予阳性对照药物地西洋 30 min 时, 腹腔注射阈下睡眠剂量的戊巴比妥钠, 10 只小鼠全部睡眠 (雌雄各半), 睡眠发生的百分率与溶剂对照组相比有明显差异 ($P < 0.001$)。



注: 各组之间相比, 均 $P > 0.05$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 4 痰热清注射液对 Beagle 犬呼吸的影响

Figure 4 Effect of Tanreqing injection on the respiration of Beagle dogs

表 2 痰热清注射液对小鼠自发活动的影响

Table 2 Effect of Tanreqing injection on the spontaneous activity of mice

(次数, $\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组 别	给药前	给药后/min				
		10	30	60	90	120
溶剂对照组	203 ± 18	143 ± 58	88 ± 53	98 ± 39	88 ± 55	81 ± 36
低剂量组	204 ± 21	119 ± 54	68 ± 32	82 ± 33	62 ± 26	63 ± 27
中剂量组	201 ± 18	95 ± 40*	64 ± 26	96 ± 43	67 ± 40	65 ± 47
高剂量组	202 ± 16	93 ± 57*	41 ± 19*	44 ± 29**	26 ± 19***	44 ± 32*
阳性对照组	205 ± 16	45 ± 23***	13 ± 9***	15 ± 15***	9 ± 8***	16 ± 15***

注: 与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

表 3 痰热清注射液对小鼠协调运动的影响
Table 3 Effect of Tanreqing injection on the coordinated movement of mice

(只, $n = 10$)

组 别	评级	给药前	给药后 /min				
			10	30	50	90	120
溶剂对照组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
低剂量组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
中剂量组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
高剂量组	0.0 级	10	10	6	0	3	8
	0.5 级	0	0	4	0	7	2
	1.0 级	0	0	0 *	8 ***	0 **	0
	1.5 级	0	0	0	2	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
阳性对照组	0.0 级	10	0	0	0	0	0
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0 ***	4 ***	9 ***	9 ***	9 ***
	1.5 级	0	5	2	1	1	1
	2.0 级	0	5	4	0	0	0

注：与溶剂对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

3 讨论

安全药理学主要是研究药物使用剂量在治疗范围内或治疗范围以上时，对生理功能的潜在、不期望出现的不良影响，主要包括观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统的影响^[5-7]。研究呼吸、心血管系统时，一般采用非啮齿类动物（犬、猴等）测定给药前后血压、心电图和心率的变化；研究中枢神经系统时，一般采用啮齿类动物，定性和定量评价给药后动物的运动功能、行为改变、协调功能和感觉/运动反射等的变化。本研究选用 Beagle 犬测定痰热清注射液对心血管、呼吸系统的影响，选用 ICR 小鼠测定该

药物对中枢神经系统的影响。

痰热清注射液在人体中的常用量为 20 mL，重症患者一次可用 40 mL（按成年人体质量 60 kg，临床剂量约为 0.33 mL 原液/kg 或 0.67 mL 原液/kg 计算）。按照安全药理学实验的剂量设定原则“应包括或超过主要药效学的有效剂量或治疗范围”^[5]，本研究中 ICR 小鼠实验的低剂量设定为 3.6 mL 原液/kg，中、高剂量分别设定为 6.25 mL 原液/kg、12.5 mL 原液/kg，相当于人体临床日常用量的 11 倍、19 倍及 38 倍，或重症患者的 5 倍、10 倍及 19 倍；Beagle 犬实验的低、中、高剂量分别为 2.5 mL 原液/kg、5 mL 原液/kg、10 mL 原液/kg，相当于人体临床日常用量的 8 倍、

15 倍及 30 倍, 或重症患者的 4 倍、8 倍及 15 倍。痰热清注射液的主要活性成分是黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸 (是熊胆粉的主要活性成分)。已有文献报告, 大鼠静脉注射痰热清注射液后, 黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的半衰期 ($t_{1/2}$) 分别为 (48.19 ± 12.74) min、 (56.19 ± 33.33) min 和 (109.96 ± 58.39) min^[3]。故本次实验记录小鼠给药后 120 min、犬给药后 240 min 的药物安全性, 涵盖了痰热清注射液主要组分的半衰期。

本研究发现, 在收缩压、平均动脉压、心电图及呼吸方面, 痰热清注射液各剂量组与相同时间点的溶剂对照组及自身给药前相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在舒张压方面, 仅低剂量组在给药后 150 min 与溶剂对照组相比明显升高 ($P < 0.05$), 但与自身给药前相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 中、高剂量组在给药过程中及给药后, 与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 故不认为药物对舒张压有明显影响。在心率方面, 高剂量组在给药后 10 和 20 min 与同时间的溶剂对照组相比, 心率明显下降 ($P < 0.01$), 但是与自身给药前相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与给药前相比, 给药后 180、210 及 240 min 的心率明显下降 ($P < 0.01$)。值得注意的是, 原始数据显示, 高剂量组 4101 号犬在给药前心率较慢 (仅 170 次/min), 给药后 180、210 和 240 min 的心率分别为 124、127 和 129 次/min, 剔除该动物后则无明显差异 ($P > 0.05$)。综合分析后, 笔者认为, 该时间段心率下降未见明显的剂量或时效相关性 (超过主要活性成分的 2 个半衰期), 可能与动物的个体差异有关, 故不认为痰热清注射液对 Beagle 犬心率有明显的影响。以上结果提示, 痰热清注射液在受试剂量范围内对心血管系统和呼吸系统是安全的。

在自发活动方面, 痰热清注射液中剂量组在给药后 10 min 小鼠自发活动减少 ($P < 0.05$), 但其余各时间点均无明显差异; 因给药后 10 min 时间点的一般行为无明显改变, 协调运动亦无明显差异 ($P > 0.05$), 综合分析认为 10 min 的自发活动减少与药物无关; 高剂量组、阳性对照

组给药后各时间点自发活动均减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 高剂量在给药后 120 min 开始有所恢复, 这可能与药物逐渐代谢有关。协调运动实验中, 痰热清注射液高剂量给药后 30、50 和 90 min 以及阳性对照组给药后各时间点的协调运动障碍评级升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 出现明显的协调运动障碍。阈下睡眠剂量戊巴比妥钠实验中, 高剂量组有 4 只小鼠睡眠, 但与溶剂对照组相比的差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 阳性对照组则全部睡眠, 差异明显 ($P < 0.001$), 显示戊巴比妥钠与地西泮具有协同作用。上述结果表明, 小鼠尾静脉注射低、中及高剂量的痰热清注射液后, 高剂量痰热清注射液对中枢神经系统有一定影响, 主要表现为自发活动减少及协调运动障碍。已有文献报告, 熊胆及引流熊胆能够抑制小鼠自主活动, 与水合氯醛有明显的协同作用, 可对抗去氧麻黄碱的兴奋作用, 并抑制戊四氮致惊厥的作用, 故具有镇静、抗惊厥功效^[8-9]。因此, 笔者认为高剂量痰热清注射液对中枢神经系统的影响可能与痰热清注射液中主要活性成分之一熊胆粉相关。

痰热清注射液上市后安全性再评价数据显示, 不良反应以皮肤及其附件为主, 但是也存在心血管 (心悸、血压降低等)、呼吸 (呼吸困难、胸闷等) 及中枢神经 (头晕、头疼及昏睡等) 系统的不良反应, 究其原因主要是由药物本身因素、患者因素及用药因素引起^[10-12]。需要注意的是, 静脉滴注痰热清注射液的滴速不宜过快, 否则容易引起头晕、胸闷^[11]。笔者认为, 血压降低也许与滴速过快相关。预实验显示快速滴注 (每条犬推注 40 min) 时血压快速下降, 因此正式实验时修订为每条犬推注 80 min, 即不再出现此现象。另外, 给予痰热清注射液治疗可能会引起镇静、嗜睡, 乃至昏睡, 这些中枢神经系统症状可能与熊胆粉的药理作用相关。

综上所述, 本实验进一步补充和完善了痰热清注射液的安全性实验数据, 为其在临床上的应用提供了新的实验依据。

参考文献:

- [1] 高益民, 王忠山. 对痰热清注射液临床药学初步评价[J].

- 首都医药, 2004, 11(12):44-46. DOI:10.3969/j.issn.1005-8257.2004.12.021.
- [2] 林育华, 周超凡. 从痰热清注射液看中药新药开发[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2):5. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2004.02.036.
- [3] 胡杰利, 刘绍勇, 张振华, 等. 痰热清注射液中主要活性成分在大鼠体内的药动学研究[J]. 中草药, 2013, 44(13): 1779-1785. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.015
- [4] 孔 艺, 吴红卫, 陈 永, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨痰热清注射液治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的机制[J]. 中草药, 2020, 51(7):1785-1794. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.012.
- [5] 国家食品药品监督管理总局药品审评中心. 药物安全药理学研究技术指导原则[EB/OL]. (2014-05-13)[2020-05-01]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=187>.
- [6] 郭健敏, 许彦芳, 马玉奎, 等. 新药非临床安全药理学研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(12):1013-1025. DOI:10.3867/j.issn.1000-3002.2019.12.001.
- [7] 刘美, 田心. 《药物安全药理学研究技术指导原则》和《药物 QT 间期延长潜在作用非临床研究技术指导原则》与 ICH S7A/S7B 的对比研究及实施建议[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(10):2745-2748. DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2018.10.061.
- [8] 李君实, 吴泽芳, 张家碧, 等. 引流熊胆与熊胆药理作用比较的研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(12):749-752, 764.
- [9] 吴明寿, 吴铁, 陈志东, 等. 吴川县人工引流熊胆粉及天然熊胆粉药理作用比较[J]. 中药材, 1995, 18(7):359-361. DOI:10.13863/j.issn1001-4454.1995.07.018.
- [10] 王亮, 张凤, 陈万生. 痰热清注射液不良事件文献分析[J]. 中国药房, 2019, 30(5):694-697. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.24
- [11] 梅娜, 王景红, 张婧, 等. 141 例痰热清注射液不良反应分析[J]. 中日友好医院学报, 2017, 31(4):236-238. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0025.2017.04.011.
- [12] 张敏, 金剑. 痰热清注射液不良反应文献分析[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(10):13-15. DOI:10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.10.006.
- (收稿日期: 2020-06-02 修回日期: 2020-11-26)

(上接第32页)

- [12] SHIMODA L A, SHAM J S, SHIMODA T H, et al. L-type Ca^{2+} channels, resting $[\text{Ca}^{2+}]_i$, and ET-1-induced responses in chronically hypoxic pulmonary myocytes[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000, 279(5):L884-894. DOI:10.1152/ajplung. 2000.279.5.L884.
- [13] 朱增民. 红细胞压积对全血黏度关系的影响研究[J]. 当代医学, 2011, 17(29):20-21. DOI:10.3969/j.issn.1009-4393.2011.29.011.
- [14] 陈泳华, 曾军, 刘春丽, 等. COPD 合并肺动脉高压疾病危险因素分析[J]. 广州医药, 2018, 49(5):74-77. DOI:10.3969/j. issn.1000-8535.2018.05.018.
- [15] 杜发茂, 刘娟丽, 高芬. 肺动脉高压大鼠重返平原血红蛋白、平均肺动脉压的变化[J]. 中国医药导报, 2012, 9(30):21-26. DOI:1673-7210(2012)10(c)-0021-03.
- [16] KASPERSKA A, ZEMBRON-LACNY A. The effect of intermittent hypoxic exposure on erythropoietic response and hematological variables in elite athletes[J]. Physiol Res, 2020, 69(2):283-290. DOI:10.33549/physiolres. 934316.
- [17] ARIAS S J, SALDANA M. The terminal portion of the pulmonary arterial tree in people native to high altitudes [J]. Circ, 1963, 28(5):915-925. DOI: 10.1161/01.cir.28.5. 915.
- (收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2020-11-09)

竹节香附素 A 对肝缺血再灌注大鼠的保护作用机制

李洪波¹, 黄锐², 代将³, 钟振东⁴

(1. 四川省广汉市人民医院外二科, 广汉 618300; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院肝胆外科, 成都 610007; 3. 四川省医学科学院·四川省人民医院急救中心, 成都 610007; 4. 四川省医学科学院·四川省人民医院动物研究中心, 成都 610007)

[摘要] 目的 探讨竹节香附素 A (raddeanin A, RA) 对大鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用机制。方法 将 30 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和 RA 组, 每组 10 只。RA 组大鼠于造模前 24 h 和 1 h 分别按体质量尾静脉注射 RA (10 mg/kg), 假手术组与模型组分别注射等体积的 0.9%NaCl 溶液 (生理盐水)。大鼠麻醉后夹闭入肝血管 60 min 致肝脏 70 % 缺血, 恢复血流 6 h 后检测血清中丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 的含量, ELISA 法检测肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的含量, HE 与 TUNEL 染色观察肝脏病理损伤与肝细胞凋亡情况, 蛋白质印迹法检测肝脏中 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白 (Bcl-2) 和半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 的表达水平。结果 与模型组比较, RA 组血清中 ALT、AST 和 LDH 含量减少 ($P < 0.05$), 肝组织中 MDA、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量减少 ($P < 0.05$), SOD 含量增加 ($P < 0.05$); RA 组肝脏组织结构完好, 凋亡细胞数量减少, 凋亡率降低 ($P < 0.01$), Bax 和 Caspase-3 水平下降, Bcl-2 水平升高 ($P < 0.05$)。结论 缺血再灌注前注射 RA 能提升缺血再灌注后大鼠肝功能, 减少氧化与炎症因子的释放, 通过下调 Bax 和 Caspase-3 蛋白表达减少肝细胞凋亡, 从而发挥保护肝脏的作用。

[关键词] 竹节香附素 A; 肝缺血再灌注; 细胞凋亡; 氧化应激; 体内活性; 中药有效成分; 大鼠
[中图分类号] Q95-33; R965.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0055-06

Mechanism of Protective Effect of Raddeanin A on Hepatic Ischemia-reperfusion in Rats

LI Hongbo¹, HUANG Rui², DAI Jiang³, ZHONG Zhendong⁴

(1. Department of Second Surgery, Guanghan People's Hospital, Guanghan 618300, China; 2. Department of Hepatobiliary & Pancreatic Center, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China; 3. Department of First-aid Center, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China; 4. Center of Animal Research, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China)

Correspondence to: DAI Jiang, E-mail: daijiang0115@aliyun.com

[Abstract] **Objective** To explore the protective mechanism of raddeanin A (RA) on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** Thirty rats were randomly assigned into three groups including sham, model and RA groups ($n=10$). The rats in the RA group were injected with RA (10 mg/kg) in the tail vein 24 h and 1 h before model construction. The rats in the sham and model groups were injected with normal saline of equal volume. After the rats were anesthetized, the blood vessels entering the liver were blocked for 60 min,

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81302161); 四川省卫生厅资助项目(17PJ587)

[作者简介] 李洪波(1973—), 男, 主治医师, 研究方向: 肝胆科。E-mail: lhbbiology@163.com

[通信作者] 代将(1977—), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事药物联合血液灌流的综合治疗。E-mail: daijiang0115@aliyun.com

causing 70% of the liver to be ischemia. The contents of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) in serum were detected 6 h after liver blood flow was restored, the superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels in liver were detected by ELISA. Liver specimens were stained with hematoxylin-eosin (HE) and TUNEL for observation of pathologic and apoptotic changes. Bcl2-associated X protein (Bax), Bcl-2 and Caspase-3 protein levels in liver were detected by Western blotting.

Results The levels of ALT, AST and LDH in the RA groups were lower than those in the model group ($P<0.01$). The levels of MDA, IL-1 β , IL-6, TNF- α , Bax and Caspase-3 in the RA groups were lower than those in the model group ($P<0.05$), the levels of SOD and Bcl-2 were higher ($P<0.05$). The structure of hepatic lobules was complete in the RA group. The apoptotic cells and the apoptosis rate in the RA group were lower than those in the model group ($P<0.01$). **Conclusion** Preoperative injection of RA can protect the liver by improving the liver function of rats after ischemia-reperfusion, reducing the release of oxidative and inflammatory factors, and reducing the apoptosis of hepatocytes via down-regulating the expressions of Bax and Caspase-3 proteins.

[Key words] Raddeanin A; Hepatic ischemia-reperfusion; Apoptosis; Oxidative stress; *in vivo* activity; Active ingredients of Chinese medicine; Rats

近年来,肝病发病率逐年上升。据不完全统计,世界上多达 25% 的人口有肝病,主要诱发类型包括病毒性感染、酗酒和非酒精性脂肪肝^[1]。肝病后期的主要治疗手段是肝脏手术或肝移植手术,而肝缺血再灌注 (hepatic ischemia reperfusion, HIR) 则是手术必要环节。目前,肝缺血再灌注的主要损伤为缺氧造成的器官损伤、炎症反应、细胞过度凋亡和基因突变等,因此,如何预防与治疗此类损伤已经是全球性课题^[2]。

竹节香附素 A (raddeanin A, RA) 是从海葵根中提取的夹竹桃型三萜皂苷^[3]。研究发现 RA 对人类肝癌细胞具有抗增殖^[3]、促凋亡、抑制迁移与侵袭的效果。另外,RA 已被证实能通过抑制核因子- κ B 和 Wnt/ β -catenin 信号通路,引起结肠癌细胞凋亡^[4],但至今未见 RA 在预防肝缺血再灌注损伤中的相关报道。此外,RA 参与 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导乳腺癌细胞凋亡^[4],提示 RA 能在细胞凋亡通路中起调节作用,可能是预防肝缺血再灌注后肝细胞过度凋亡的一个潜在化合物。因此,本实验从氧化应激与细胞凋亡两个方面探讨 RA 对肝缺血再灌注损伤大鼠的保护作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量为 260 ± 20 g,

由成都达硕实验动物有限公司提供[SCXK(川)2015-030],饲养于四川大学华西医院[SYXK(川)2018-119]。本研究经四川大学华西医院实验动物伦理委员会审批通过(编号 2020280A)。

1.2 药物、试剂和仪器

RA 纯度 $\geq 98\%$,购自上海源叶生物科技有限公司(批号:20190203)。超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所,白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、TUNEL 测定试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,兔抗 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、 β -肌动蛋白(β -actin)一抗和羊抗兔二抗均购自艾博抗(上海)贸易有限公司。全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)、酶标仪(美国 Thermo 公司)、切片机(德国 Leica 公司)、光学显微镜(日本 Olympus 公司)、蛋白质电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)、全功能成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 主要实验方法

1.3.1 实验分组及大鼠肝缺血再灌注模型构建^[5]

将 30 只大鼠按随机数字表法随机分成 3 组,即模型组、假手术组与 RA 组,每组 10 只。RA 组手术前 24 h 与 1 h 分别经尾静脉注射 RA (10 mg/kg),模型组与假手术组同法注射等体积的 0.9% NaCl 溶

液（生理盐水）。最后一次预处理完毕后 1 h，各组大鼠腹腔注射戊巴比妥（40 mg/kg），于上腹正中做长约 4 cm 切口打开腹腔，暴露肝脏且游离肝周韧带。模型组与 RA 组用无损伤血管夹夹闭肝左叶和肝中叶入肝血管阻断血流（70% 肝脏缺血）60 min 后，松开血管夹恢复血流。假手术组仅游离肝门而不阻断血流。再灌注 6 h 后，从下腔静脉采血用于丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、乳酸脱氢酶（LDH）的检测；采集左叶肝脏在 -80℃ 下储存，用于炎症因子、氧化应激因子和凋亡相关蛋白的检测；右叶肝脏储存在 4% 的多聚甲醛溶液中固定，用于 HE 染色与 TUNEL 染色病理学观察。

1.3.2 血清中 ALT、AST、LDH 含量的检测

收集下腔静脉血 1 mL，以 3 000 r/min 离心 10 min，取上层血清，按照试剂盒说明书进行操作，使用全自动血液生化仪测定各组血清中 ALT、AST 和 LDH 的水平。

1.3.3 肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 SOD、MDA 含量的检测

将左叶肝脏制备 10% 的组织匀浆，3 000 r/min 离心 10 min，取上清液按照试剂盒说明书进行操作，使用全自动酶标仪测定肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 SOD、MDA 的含量。

1.3.4 肝脏形态学分析

所有组织病理学检查均采用“双盲法”。将固定好的各组肝脏标本用石蜡包埋后分别使用 HE 染色，在 400 倍下进行组织学分析，评价肝脏组织被膜、肝索、中央静脉和核膜等的损伤情况。

1.3.5 肝细胞凋亡率的检测

各组肝脏标本用石蜡包埋、切片后，按照 TUNEL 染色试剂盒进行染色操作，使用荧光显微镜观察细胞凋亡情况，每张切片随机选取 5 个 400 倍视野，按每 100 个细胞中含凋亡细胞数计算细

胞凋亡率。

1.3.6 蛋白质印迹法检测

将左叶肝脏取出，提取总蛋白并测定蛋白浓度。蛋白样品（20 μ g）使用 10 % SDS-PAGE 进行电泳，然后转移到 PVDF 膜上。在室温下用 5% 脱脂奶粉将膜封闭 60 min，然后加入下列一抗在 4℃ 条件下过夜孵育：兔抗大鼠 Bax（1：1 000）、兔抗大鼠 Bcl-2（1：1 000）、兔抗大鼠 Caspase-3（1：1 000）、兔抗大鼠 β -actin（1：1 000）。使用 TBST 将膜清洗干净后，加入羊抗兔 IgG（1：10 000），室温孵育 2 h，最后使用 ECL 试剂盒曝光显影，使用凝胶成像系统进行分析。

1.4 统计分析

使用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析，数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RA 预处理对大鼠肝脏功能的保护作用

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组与 RA 组血清中 ALT、AST 与 LDH 含量明显增高（ $P < 0.01$ ）。与模型组相比，RA 组血清中 ALT、AST 与 LDH 的含量明显减少（ $P < 0.01$ ）（表 1）。

2.2 RA 预处理对大鼠炎症因子的影响

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组大鼠肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量明显增多（ $P < 0.01$ ）；与模型组相比，RA 组肝脏中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量明显减少（ $P < 0.05$ ）（表 2）。

2.3 RA 预处理对大鼠肝脏氧化应激因子的影响

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组大鼠肝脏中 SOD 含量明显降低，MDA 含量明显增多（均 $P < 0.05$ ）；与模型组相比，RA 组肝脏中 SOD 含量明显增多，MDA 明显减少（均 $P < 0.05$ ）（表 3）。

表 1 3 组大鼠血清中 ALT、AST、LDH 含量
Table 1 Serum ALT, AST and LDH contents in the three groups of rats

组 别	$(\bar{x} \pm s, n=10)$		
	ALT/(U $\cdot$ L ⁻¹)	AST/(U $\cdot$ L ⁻¹)	LDH/(U $\cdot$ L ⁻¹)
假手术组	45.83 $\pm$ 5.95	110.67 $\pm$ 5.68	791.53 $\pm$ 21.33
模型组	199.50 $\pm$ 15.24**	203.67 $\pm$ 11.02**	1717.57 $\pm$ 75.74**
竹节香附素 A 组	129.87 $\pm$ 14.88##	166.67 $\pm$ 6.72##	1347.23 $\pm$ 34.36##

注：与假手术组相比，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，## $P < 0.01$ 。

表 2 3 组大鼠肝脏中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量
Table 2 IL-1 β , IL-6 and TNF- α contents in the liver of the three groups of rats

组 别	IL-1 β /(ng $\cdot$ L $^{-1}$)	IL-6/(ng $\cdot$ L $^{-1}$)	TNF- α /(ng $\cdot$ L $^{-1}$)
假手术组	4.55 $\pm$ 0.21	3.58 $\pm$ 0.11	35.96 $\pm$ 1.47
模型组	5.28 $\pm$ 0.14**	3.99 $\pm$ 0.13**	40.36 $\pm$ 0.66**
竹节香附素 A 组	4.82 $\pm$ 0.16##	3.70 $\pm$ 0.10##	37.99 $\pm$ 0.30##

注：与假手术组相比，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，## $P < 0.01$ 。

表 3 3 组大鼠肝脏中 SOD 和 MDA 含量
Table 3 SOD and MDA contents in the liver of the three groups of rats

组 别	SOD/(ng $\cdot$ L $^{-1}$)	MDA/(ng $\cdot$ L $^{-1}$)
假手术组	22.97 $\pm$ 1.08	0.73 $\pm$ 0.02
模型组	20.47 $\pm$ 0.14*	0.84 $\pm$ 0.02**
竹节香附素 A 组	21.13 $\pm$ 0.32#	0.79 $\pm$ 0.02#

注：与假手术组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，# $P < 0.05$ 。

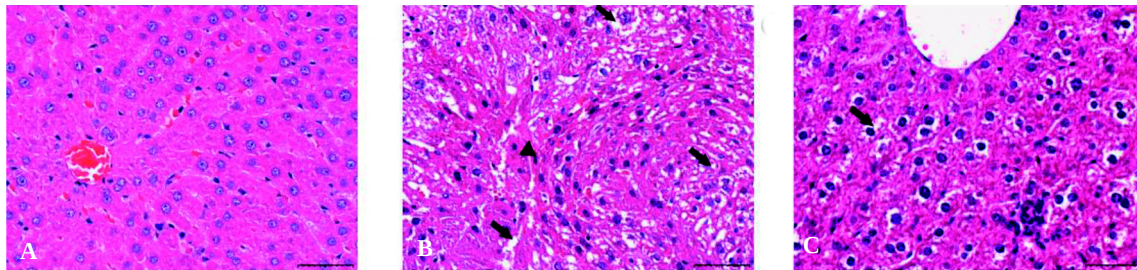
2.4 RA 预处理对大鼠肝脏形态学的影响

HE 染色后光学显微镜下观察发现：假手术组肝脏组织均为正常形态结构，未见明显的纤维组织增生及炎性渗出（图 1A）。模型组肝脏被膜完整，肝索排列紊乱；大量肝细胞空泡变性或坏死，可见细胞明显肿胀变形，细胞质内含大小

不等的空泡，细胞核多被挤于一侧，部分细胞核固缩或溶解，细胞结构模糊；门管区结构完整，未见明显病理改变（图 1B）。RA 组肝脏被膜完整，肝索排列较为整齐，肝细胞肿胀、空泡变性，偶见少量肝细胞呈点状坏死，并伴少量中性粒细胞或淋巴细胞浸润；门管区结构完整，未见明显病理改变（图 1C）。

2.5 RA 预处理对大鼠肝脏细胞凋亡的影响

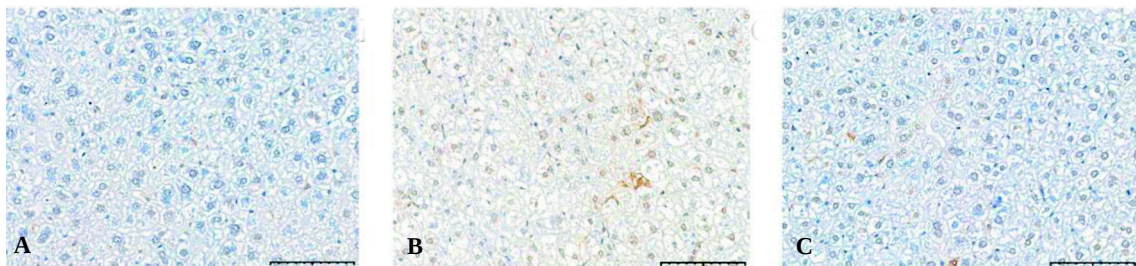
TUNEL 法结果显示，假手术组细胞核多数呈蓝色，细胞结构完整，凋亡细胞较少（图 2A）；模型组大部分细胞核呈黄色，说明细胞结构被破坏，凋亡细胞大量生成（图 2B）；RA 组细胞核大部分呈蓝色，部分细胞核呈黄色，说明出现部分凋亡细胞（图 2C）。与假手术组相比，模型组和 RA 组肝脏细胞凋亡率均明显升高



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为竹节香附素 A 组；↓ 示不规则空泡，▲ 示肝索排列紊乱；标尺 = 50 μ m。

图 1 3 组大鼠肝脏病理形态学观察 (HE 染色)

Figure 1 Observation on pathological morphology of the liver in the three groups of rats (HE staining)



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为竹节香附素 A 组；标尺 = 100 μ m。

图 2 3 组大鼠肝细胞凋亡观察 (TUNEL 染色)

Figure 2 Observation on apoptosis of hepatocytes of the three groups of rats (TUNEL staining)

($P < 0.01$); 与模型组相比, RA 组肝脏细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.01$) (表 4)。

2.6 RA 预处理对大鼠肝脏凋亡蛋白的影响

与假手术组相比, 模型组与 RA 组中 Bax 与 Caspase-3 的蛋白表达水平明显升高, 而 Bcl-2 的蛋白表达水平明显降低 (均 $P < 0.05$); 与模型组相比, RA 组中 Bax 与 Caspase-3 的表达水平明显降低, Bcl-2 的表达水平明显升高 ($P < 0.05$) (表 5, 图 3)。

表 4 3 组大鼠肝细胞凋亡率

Table 4 Apoptosis rates of hepatocytes in the three groups of rats

组 别		凋亡率/%
假手术组		0.02 ± 0.04
模型组		16.15 ± 0.33**
竹节香附素 A 组		6.62 ± 0.99##

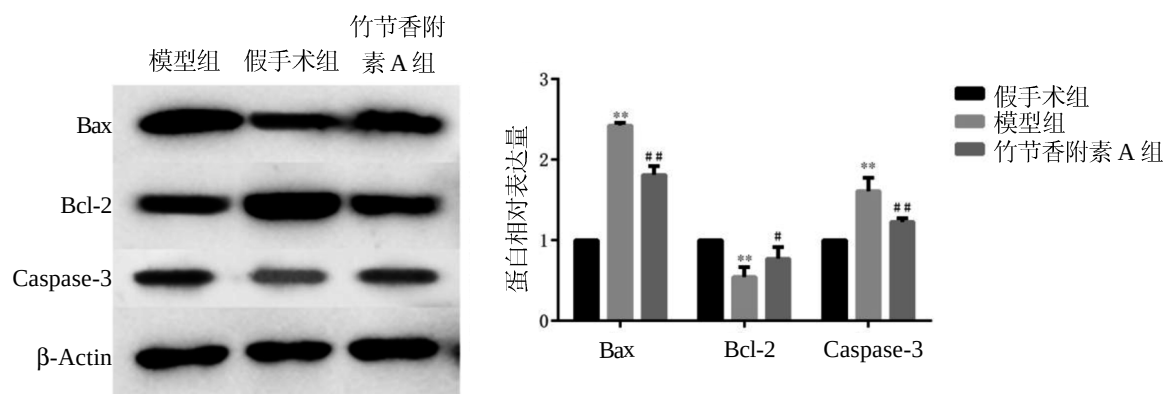
注: 与假手术组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。

表 5 3 组大鼠肝脏中 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达

Table 5 Expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in the liver of the three groups of rats

组 别				($\bar{x} \pm s, n=10$)
Bax		Bcl-2		Caspase-3
假手术组		1.00 ± 0.00		1.00 ± 0.00
模型组		2.43 ± 0.33**		1.61 ± 0.17**
竹节香附素 A 组		1.81 ± 0.11##		1.23 ± 0.05##

注: 与假手术组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。



注: 与假手术组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 3 3 组大鼠肝脏中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达

Figure 3 Expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in the liver of the three groups of rats

3 讨论

肝缺血再灌注损伤最主要的特征是肝损伤, 而肝功能检测是目前肝损伤检测最快捷方便的一个方法, 其最常见的检测指标为血清中的 ALT、AST 和 LDH。肝损伤的主要表现是血清中 ALT 和 AST 的水平异常升高^[6-7]。本研究结果显示, RA 能有效降低肝缺血再灌注后肝细胞中 ALT 与 AST 的水平, 同时能降低血清中 LDH 的水平 ($P < 0.01$), 说明模型制备成功, 而且 RA 能预防肝缺血再灌注后肝细胞的损伤。

氧化应激平衡在缺血过程中起关键作用, 失衡会导致肝细胞损伤^[8], 主要原因是缺血导致组织缺氧, 形成大量氧自由基, 发生脂质过氧化作用^[9-10]。目前检测氧化应激平衡的常用指标为 SOD 与 MDA。本研究结果表明, 肝缺血再灌注前使用 RA 预防给药, 能明显降低肝组织中 MDA 的含量, 提高 SOD 的水平 ($P < 0.05$), 说明 RA 能预防肝缺血再灌注带来的氧化应激失衡。有研究发现, 肝脏中的巨噬细胞会在再灌注后产生大量的炎性因子与趋化因子, 调节与激活一系列的炎性机制, 造成炎症反应, 损伤肝细胞^[11],

最终引起细胞死亡和组织坏死^[12]。同时,再灌注早期主要的损伤是由促炎因子与细胞因子造成,如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等^[13]。本实验发现,术前使用 RA 预防后,肝脏中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量显著降低 ($P < 0.05$),阻止了肝组织氧化应激失衡,同时减轻了炎症因子对肝脏的损伤。

病理学观察是评价器官病变的重要手段之一,能直观地反映器官组织的状态。对肝脏进行病理学形态观察也发现,HE 染色后,RA 组肝脏组织的细胞核肿胀程度与细胞质内空白均明显减少,细胞排列结构也恢复整齐,证明 RA 可以预防肝缺血再灌注后的损伤。细胞凋亡是一种细胞死亡方式。研究发现,肝脏再灌注会激活相关凋亡通路,诱导正常或受损的肝细胞死亡^[14]。本实验发现,RA 组中肝细胞的凋亡数量明显减少,细胞凋亡率也明显降低 ($P < 0.01$); RA 组凋亡通路中 Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达水平显著降低, Bcl-2 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$),结果表明,RA 在作用正常肝细胞时,体现的药理作用主要以抗炎抗氧化为主,通过减少肝脏组织中氧化应激与炎症因子的水平间接避免肝脏细胞受损,表现出细胞凋亡减少的状态。综合两部分结果,RA 的预防给药能减轻肝脏的病变,减少肝细胞的凋亡数量,其作用机制可能是降低 Bax 和 Caspase-3 的表达,以及增加 Bcl-2 的表达。

缺血再灌注是一种复杂的病理生理现象,是一个包括局部缺血损伤与再灌注损伤的动态过程^[15],涉及代谢紊乱、氧化应激、炎症反应和细胞凋亡等过程。所以,探讨缺血再灌注损伤的确切机制对减轻手术风险和改善患者预后具有重要意义。RA 作为一种中药有效提取成分,提取方法简单,成本低廉且获取方式多,不良反应少,是一种非常好的治疗药物。RA 在肿瘤细胞中通过促进细胞凋亡产生抗肿瘤的作用,对正常细胞具有保护与抗炎作用,不会对正常细胞造成损伤。本实验通过对大鼠术前注射 RA,研究发现其有预防肝缺血再灌注损伤的效果,表现为提升肝功能、降低氧化损伤、减少炎症因子的释放,以及减少肝细胞凋亡,其作用途径可能与 Bax/Bcl-2/Caspase-3 凋亡通路相关。

参考文献:

- [1] LIU H, DONG J, SONG S, et al. Spermidine ameliorates liver ischaemia-reperfusion injury through the regulation of autophagy by the AMPK-mTOR-ULK1 signalling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519 (2):227-233. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.162.
- [2] NASTOS C, KALIMERIS K, PAPOUTSIDAKIS N, et al. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014:906965. DOI: 10.1155/2014/906965.
- [3] GU G, QI H, JIANG T, et al. Investigation of the cytotoxicity, apoptosis and pharmacokinetics of Raddeanin A[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(3):1365-1369. DOI:10.3892/ol.2017.5588.
- [4] GUO S S, WANG Y, FAN Q X. Raddeanin A promotes apoptosis and ameliorates 5-fluorouracil resistance in cholangiocarcinoma cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(26):3380-3391. DOI:10.3748/wjg.v25.i26.3380.
- [5] ZHANG T, SHU H H, CHANG L, et al. Resolvin D1 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1):322-327. DOI:10.1016/j.intimp.2015.06.017.
- [6] DU Y, LI D, HAN C, et al. Exosomes from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stromal cells (hiPSC MSCs) protect liver against hepatic ischemia/reperfusion injury via activating sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(2):611-625. DOI:10.1159/000480533.
- [7] GAO L, CHEN X, PENG T, et al. Caveolin-1 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury through ameliorating peroxynitrite-mediated cell death[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 95(defined):209-215. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.023.
- [8] LIU D, JIN X, ZHANG C, et al. Sevoflurane relieves hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting the expression of Grp78[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5):BSR20180549. DOI: 10.1042/BSR20180549.
- [9] TAK E, PARK G C, KIM S H, et al. Epigallocatechin-3-gallate protects against hepatic ischaemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and apoptotic cell death [J]. *J Int Med Res*, 2016, 44(6):1248-1262. DOI:10.1177/0300060516662735.

(下转第 65 页)

实验材料检测在 SPF 级实验小鼠质量控制中的应用

陈国元, 康 康, 李晓娴, 纪文韬, 张金梅, 冯延花, 田倩莹, 吴宝金

(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心动物实验技术平台, 上海 200031)

[摘要] 目的 探讨对 SPF 级实验小鼠屏障设施进行实验材料检测的可行性及应用价值。方法 收集带入屏障设施的实验材料, 对非细胞样品进行细菌培养, 对细胞样品用 PCR 法检测支原体。结果 5 年共收集 14 708 例实验材料, 其中非细胞样品 13 085 例, 细菌平均检出率为 1.99%; 细胞样品 1 623 例, 支原体平均检出率为 4.81%。整体上阳性检出率呈逐年下降趋势, 近年来稳定在一个相对较低的水平。结论 对带入屏障设施的实验材料进行大规模持续检控切实可行, 可提示研究人员加强对动物实验材料的无菌处理, 可使管理者确定来自实验材料的危害程度, 同时也是 SPF 级实验小鼠微生物感染防控的有效措施之一。

[关键词] 动物实验; 材料检控; 细菌检测; 支原体检测; 实验动物设施

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0061-05

Application of Experimental Material Inspection in Quality Control of SPF Mice

CHEN Guoyuan, KANG Kang, LI Xiaoxian, JI Wentao, ZHANG Jinmei, FENG Yanhua, TIAN Qianying, WU Baojin

(Animal Core Facility, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Correspondence to: WU Baojin, E-mail: baojin.wu@sibcb.ac.cn

[Abstract] **Objective** To establish inspection methods for materials carried into barrier facilities housing specific pathogen-free (SPF) laboratory mice. **Methods** Experimental materials brought into a murine barrier facility were collected. Non-cellular material samples were cultured to identify whether samples harbored bacteria, and cell samples were screened for the presence or absence of mycoplasma using PCR. **Results** A total of 14 708 experimental materials were collected and evaluated over a 5-year period. The average positive rate for bacterial detection in 13 085 non-cellular samples was 1.99%, and the positive rate for mycoplasma in 1 623 cell samples was 4.81%. Positive detection rates for bacteria and mycoplasma have gradually decreased and have remained at low levels over recent years. **Conclusions** It is feasible to conduct continuous large-scale inspection, monitoring, and control of experimental materials used in animal barrier facilities. Inspection processes can strengthen the confidence of researchers performing aseptic treatment with animal experimental materials and enable facility managers to evaluate risks from experimental materials. Experimental material inspection is an effective measure for microbial quality control in SPF experimental mice.

[Key words] Animal experiments; Material inspection; Bacterial detection; Mycoplasma detection; Laboratory animal facility

屏障设施作为 SPF 级实验动物饲养繁殖和动物实验的主要场地, 其日常运行的有效管理十分重要。屏障设施管理除了控制温度、湿度、光

照及噪音等环境条件, 最重要的目标就是将病原微生物和寄生虫等威胁动物健康的致病因子屏蔽在外^[1]。屏障设施除了对标准中规定的各项参

[作者简介] 陈国元(1977—), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 实验动物使用和管理。E-mail: chenguoy@sibcb.ac.cn

[通信作者] 吴宝金(1969—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 小鼠遗传学和屏障设施管理。E-mail: baojin.wu@sibcb.ac.cn

数进行控制外,还必须考虑其他因素对屏障内实验动物质量的影响,其中威胁最大的是实验过程中使用的各种各样的实验材料,尤其是那些在屏障外制备的、不允许经高压灭菌的生物活性物质和试剂。

自2013年中国科学院生物化学与细胞生物学研究所(现分子细胞科学卓越创新中心)的2 400 m²动物屏障设施启用至今,设施内饲养的实验小鼠始终保持SPF级。在实际工作中,本单位重视对带入设施内实验材料的管理,进行了连续5年的大规模检控工作,共检测了一万多份实验材料样品。现将本单位实验材料检控的措施和结果整理成文,以期对动物实验设施的有效管理提供参考。

1 材料与方法

1.1 检测样品的获取

本研究涉及的检测样品仅为2015—2019年实验人员带入本单位屏障设施的动物实验材料。根据本单位对屏障设施管理的规章制度要求,每一位实验人员在完成动物实验后将实验试剂或材料留样送检,溶液类样品体积要求尽量超过100 μ L。针对溶液类样品和特殊饲料等非细胞类样品,检测其是否含带细菌;针对细胞类样品,则检测其有无支原体。

1.2 菌落检测方法

吸取100 μ L溶液类样品,涂布于直径9 cm无抗LB平皿(上海科玛嘉微生物技术有限公司);送样体积少于100 μ L时,使用无菌水补充体积至略超过100 μ L,然后吸取100 μ L涂布于无抗LB平皿。特殊饲料等固体样品,则取小块样品无菌操作捣碎后,使用200 μ L无菌水浸泡,室温稍微静置,再吸取100 μ L上清液涂布于无抗平皿。平皿在37 $^{\circ}$ C培养箱中培养24 h以上,检查有无菌落和菌落数量等。

1.3 支原体检测方法

吸取细胞类样品培养液上清1 000 μ L,置于1.5 mL的EP管中,不足体积则用无菌水补足至1 000 μ L。100 $^{\circ}$ C加热EP管10 min,然后以12 000 r/min离心10 min。只移取上清液100 μ L

至新的EP管,该上清液作为后续PCR检测的样品。上清液样品于-20 $^{\circ}$ C可保存1周,于4 $^{\circ}$ C只可保存1 d。

使用PCR法检测上清液样品。PCR反应体系(共20 μ L):2 μ L待检测上清样品,10 μ L 2 $\times$ EX Taq mix,0.5 μ L正向引物(序列:5'-GGGA-GCAAACAGGATTAGATACCCT-3'),0.5 μ L反向引物(序列:5'-TGCACCATCTGTCACTCTG-TTAACCTC-3'),7 μ L无菌去离子水。PCR反应条件:94 $^{\circ}$ C 2 min,37个循环(94 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 20 s),72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR产物使用含EB的2%琼脂糖凝胶电泳,上样量为10 μ L/孔。使用上海天能公司生产的Tanon凝胶成像仪对电泳胶拍照记录,支原体阳性条带在270 bp附近。

1.4 细菌鉴定方法

对非细胞类实验材料进行细菌检测时,如果涂布的LB平皿出现阳性菌落,则从平皿中随机挑取菌落,用三线法划线接种到营养琼脂LB平板上,37 $^{\circ}$ C继续培养24 h。再从该平皿挑取单克隆菌落,利用试剂盒(康为世纪生物技术有限公司)提取基因组DNA。以基因组DNA为模板,利用细菌通用引物进行PCR扩增,正向引物序列为5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向引物序列为5'-GGTTACCTTGTTAC-GACTT-3',引物序列位于细菌16S核糖体RNA对应的DNA编码区内。PCR反应体系(共20 μ L):2 μ L样品,10 μ L 2 $\times$ EX Taq mix,0.5 μ L正向引物,0.5 μ L反向引物,7 μ L无菌去离子水。PCR反应条件:94 $^{\circ}$ C 8 min,30个循环(94 $^{\circ}$ C 45 s,60 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 30 s),72 $^{\circ}$ C 5 min。PCR产物送到生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测序结果经BLAST比对后确定细菌种类。BLAST使用的网站地址为<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>。

2 结果

2.1 样品收集情况

从2015年开始,根据制定的设施管理规定,要求实验人员将带入的实验材料进行分样送检。在操作过程中,通过表格登记、传递仓监控、定

期回溯有无人员漏送样品并加以提醒等措施，促使研究人员如实送检样品。送检的样品种类主要有化学和生物学试剂、麻醉剂、特殊饲料、细胞系、质粒、DNA 或 RNA 等。5 年累计收检样品 14 708 份，兽医实验室对所有样品进行了检测。

表 1 为 2015—2019 年各种实验材料数量（包括非细胞类样品材料和细胞类样品材料）、收检样品分类和总量统计结果。从表 1 可以看出，随着屏障内实验小鼠饲养量和动物实验量的逐年增加，实验人员按照要求送检的样品总量也逐年递增。

表 1 2015—2019 年收检样品分类和总量统计表
Table 1 Classification and statistics for samples inspected from 2015 to 2019

组 别	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年	合计
非细胞类样品数	897	1 374	2 597	3 166	5 051	13 085
细胞样品数	222	236	171	335	659	1 623
收检样品总数	1 119	1 610	2 768	3 501	5 710	14 708
小鼠平均饲养笼数	5 906	7 965	9 015	10 649	12 992	—

2.2 非细胞类样品菌落检测结果

检测结果显示，约 1/3 的样品无菌落生长，多数送检样品有一定量菌落生长。经过初期的比较权衡，将单个平皿菌落总数 30 个作为控制标准，超过 30 个菌落的样品判为细菌检测不合格，并通知实验人员处理所涉实验的动物。从表 2 列出的统计结果可以看到，2015 年刚开始实施实验材料检控时，非细胞类样品细菌检测阳性率比较高。细菌阳性的样品数量和阳性率呈逐年下降趋势，近年来处在低于 1% 的检出率水平。图 1 中的 LB 平皿为典型的样品细菌检测出现阳性的结果，据送样的动物实验人员反馈，该试剂没有经过除菌处理。



图 1 LB 平皿培养结果
Figure 1 Results of a sample cultured on LB plate

2.3 细胞类样品支原体检测结果

检测结果见表 3。在 2015 年送检的细胞样品中，支原体检出率高达 13.5%。随着实验人员的

表 2 非细胞类样品细菌检测统计
Table 2 Statistics for bacterial detection in non-cellualr material samples

年度	样品数	细菌阳性数	阳性率 /%
2015	897	81	9.03
2016	1 374	67	4.88
2017	2 597	39	1.50
2018	3 166	30	0.95
2019	5 051	44	0.87
合计	13 085	261	1.99

表 3 细胞类样品支原体检测统计表
Table 3 Statistics for mycoplasma detection in cell samples

年度	样品数	支原体阳性数	阳性率 /%
2015	222	30	13.50
2016	236	22	9.32
2017	171	11	6.43
2018	335	5	1.49
2019	659	10	1.52
合计	1 623	78	4.81

重视,细胞样品的支原体检出率逐渐降低,2019年仅为1.52%。图2显示PCR法对5个细胞样品的支原体检测结果的电泳图,其中泳道4~7对应的4个细胞样品未检测出支原体,泳道8对应的1个细胞样品支原体阳性。

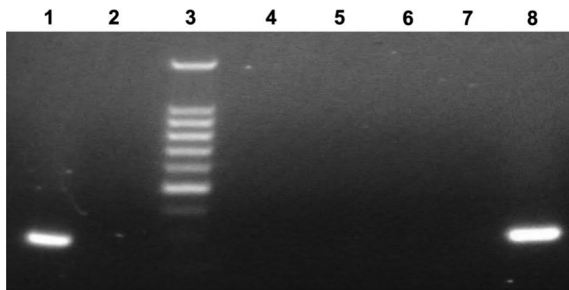


图2 细胞样品PCR法检测支原体电泳结果

Figure 2 Results of electrophoresis of PCR products after mycoplasma detection in cell samples

2.4 实验材料中携带的细菌种类鉴定

为探究实验材料带入细菌的类型,2019年选取了20份细菌检测阳性样品,对样品中含有的细菌进行了鉴定。20份样品共随机挑取了34个单克隆菌落,提取相应基因组DNA,PCR扩增后测序比对,从中鉴定出的细菌种类及数量见表4。样品携带细菌以葡萄球菌属的细菌居多;34个单克隆菌落中,12个为缓慢葡萄球菌,8个为腐生葡萄球菌。

表4 细菌类别鉴定结果

Table 4 Results of identification of bacterial species

细菌类别	数量
缓慢葡萄球菌	12
腐生葡萄球菌	8
木糖葡萄球菌	3
巨大芽孢菌	2
链球菌	2
鼠乳杆菌	2
弯曲芽孢杆菌	2
乙酰微小杆菌	1
婴儿芽孢杆菌	1
产酸克雷伯菌	1
合计	34

3 讨论

本单位动物屏障设施现保有13 000笼实验

小鼠,至今持续运行已7年多,设施内实验小鼠质量始终符合SPF等级标准要求,这与从2015年开始进行大规模实验材料检控措施有密切关系。本单位规定研究人员向屏障内传递实验材料后,必须在屏障内将样品分装备检,同时提供课题组、实验人员姓名、样品名称、送检日期等信息。当细菌检测阳性或细胞支原体检测阳性时,兽医实验室会通知研究人员对实验材料制备过程进行整改,接触过阳性实验材料的小鼠须移出屏障设施。如果同一实验人员带入的实验材料在1年内累计出现3次阳性检测结果,则该实验人员不能在动物屏障设施内继续开展实验。该措施实行5年来,检测的样品总量逐年增多,但细菌和支原体阳性的样品数量和阳性率均呈逐年下降趋势,说明对带入动物实验屏障设施内实验材料的检控措施有助于降低实验材料中微生物污染风险。

在做细胞培养时,实验人员会时刻注意无菌操作,但在做动物实验时往往疏于对材料的除菌处理,容易出现细菌或支原体污染。通过规则制定和配套检控措施,能使实验人员意识到控制实验材料中微生物的重要性并加以重视,可有效降低实验动物被污染的概率。一般实验材料可以通过高温消毒或滤膜过滤处理,一些不耐高温高压的材料可通过辐照除菌。实践中,须督促实验人员每次送检带入的实验材料样品。收到样品后须及时检测,如不能及时检测,需将样品放置4℃冰箱保藏,但不宜超过1 d,以防样品中细菌传代增量。

支原体是清洁级实验小鼠也必须排除的病原体,支原体的感染会严重影响动物健康和实验数据^[2]。支原体污染是细胞培养中经常遇到的难题,本设施要求实验人员对其细胞培养液进行自检,支原体阴性的细胞方可带入屏障设施。一旦发现支原体阳性材料做过的动物实验,相关小鼠须移出屏障设施。考虑到动物实验的连续性,本单位在实践中设有一个小型设施,用于接纳可能被污染的实验动物,避免造成支原体在控制严格的大型设施内传播。这样可以降低出现阳性结果后对实验的影响,让大部分实验人员能够做到切实配合送检,既能保护大型屏障设施内的动物,也不会引起动物实验人员的抵触。另外,当

细胞出现支原体污染,实验人员往往会使用一些抗支原体的药物加在培养液中进行控制,经过一段时间的药物治疗,细胞中的支原体会大幅减少,但是这样的细胞系往往在停药一段时间后又能被检测到支原体。

为了探究收检的实验材料所携带的细菌类别,本单位通过测序鉴定到12种细菌。其中链球菌是SPF级实验小鼠需排除的微生物,其余11种细菌未列入检测排除项。这11种细菌中,也有一些可影响人类或实验动物健康,应加以关注。比如检出次数最多的缓慢葡萄球菌曾被认为不具有致病性,但越来越多的资料表明它是人类或许多动物不可忽视的致病菌,对于免疫力低下的人群或动物可导致严重的后果,并能引起实验小鼠的慢性死亡^[3];木糖葡萄球菌广泛分散于自然界,以往认为是非致病菌,但此菌引起的感染时有报道^[4];产酸克雷伯菌虽未像肺炎克雷伯菌那样须在SPF级实验小鼠中排除,但该菌同样是重要的条件致病菌,主要寄生在人和动物的呼吸道和肠道,而实验小鼠也对该菌易感^[5]。由此可见实验材料中携带微生物的种类非常多样,因此一定要预先无菌处理,将其对实验小鼠的危害降到最低。后续本单位将继续检控实验材料,当出现阳性结果时,进一步探究不同实验材料中容易携带的微生物种类,以便进一步探讨其对实验动物健康可能产生的影响。

总之,用于动物实验的实验材料都将与实验动物直接接触,其携带微生物的污染势必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,所以对动物实验材料进行检控也就显得必要和重要。本单位持续多年对实验材料检控的做法,有效保障了SPF级实验小鼠质量和设施安全,这一经验对类似动物实验屏障设施的运行管理具有参考意义。

参考文献:

- [1] 李学勇. 实验动物设施运行管理指南[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 20-27.
 - [2] PERCY D H, BARTHOLD S W. Pathology of laboratory rodents and rabbits [M]. 3rd ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional, 2007:325. DOI:10.1002/9780470344613.
 - [3] 盛相鹏, 杜崇涛, 许会会, 等. 仓鼠源缓慢葡萄球菌的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 动物医学进展, 2010, 31(7):30-35. DOI:10.3969/j.issn.1007-5038.2010.07.007.
 - [4] 车惠琴, 韩敏娣. 19株木糖葡萄球菌的生物学特性和鉴定[J]. 临床检验杂志, 2001, 19(4):226.
 - [5] FOREMAN O, KAVIRAYANI A M, GRIFFEY S M, et al. Opportunistic bacterial infections in breeding colonies of the NSG mouse strain[J]. Vet Pathol, 2011, 48(2):495-499. DOI:10.1177/03009858282.
- (收稿日期: 2020-07-06 修回日期: 2020-11-03)

(上接第60页)

- [10] ARSLAN M, METIN ÇOMU F, KÜÇÜK A, et al. Dexmedetomidine protects against lipid peroxidation and erythrocyte deformability alterations in experimental hepatic ischemia reperfusion injury[J]. Libyan J Med, 2012, 7(1):18185. DOI: 10.3402/ljm.v7i0.18185.
 - [11] SUN Q, HE Q, XU J, et al. Guanine nucleotide-binding protein G(i)α2 aggravates hepatic ischemia-reperfusion injury in mice by regulating MLK3 signaling[J]. FASEB J, 2019, 33(6):7049-7060. DOI:10.1096/fj.201802462R.
 - [12] KATWAL G, BARAL D, FAN X, et al. SIRT3 a major player in attenuation of hepatic ischemia-reperfusion injury by reducing ROS via its downstream mediators: SOD2, CYP-D, and HIF-1α[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018:2976957. DOI:10.1155/2018/2976957.
 - [13] YAN X, HUI Y, HUA Y, et al. EG-VEGF silencing inhibits cell proliferation and promotes cell apoptosis in pancreatic carcinoma via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109:762-769. DOI:10.1016/j.biopha.
 - [14] WANG P, ZHANG R, HUANG L, et al. Interferon regulatory factor 9 is a key mediator of hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. J Hepatol, 2015, 62(1):111-120. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.08.022.
 - [15] CHEN F, ZHANG Y M, WANG J T, et al. Pre-treatment with FK506 reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2019, 43(2): 161-170. DOI:10.1016/j.clinre.2017.04.009.
- (收稿日期: 2020-06-12 修回日期: 2020-11-03)

实验动物健康码管理的架构设计

姜 鲲¹, 汤逸雯², 刘延滨¹, 陈历铭³, 汤宏斌⁴

(1.湖北省科技信息研究院, 武汉 430071; 2.湖北科技学院, 咸宁 437100; 3.武汉工程大学邮电与信息工程学院, 武汉 430070; 4.武汉大学动物实验中心, 武汉 430071)

[摘要] 健康码是一种具有个体真实数据的二维码电子凭证。将健康码用于实验动物行政许可的事中监管, 将极大提高实验动物生产、运输和使用过程的管理效率。针对实验动物的省级属地管理特点, 建立统一的信息接口标准, 实现全国互认, 将促进实验动物的产业流通。由固定端的实验动物网络管理转换为移动手持终端的实验动物信息管理, 将是在 5G 网络条件下的一个发展趋势。

[关键词] 实验动物; 健康码; 事中监管

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0066-04

Design of Health Code Management Framework for Laboratory Animals

JIANG Kun¹, TANG Yiwen², LIU Yanbin¹, CHEN Liming³, TANG Hongbin⁴

(1. Hubei Academy of Scientific and Technical Information, Wuhan 430071, China; 2. Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, China; 3. College of Post and Telecommunication, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430070, China; 4. Laboratory Animal Center, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

Correspondence to: TANG Hongbin, E-mail: 00300822@whu.edu.cn

[Abstract] Health code is a form of two-dimensional electronic certificate with personal real data. It can greatly improve management efficiency when applied to the supervision of administrative licenses involving laboratory animals in the process of production, transportation, and use. According to the characteristics of provincial territorial management of laboratory animals, a unified information interface standard should be established to realize national mutual recognition for promoting industrial circulation. This would represent a development trend under 5G conditions such that network management of laboratory animals on the fixed end is transformed into information management of laboratory animals on mobile handsets.

[Key words] Laboratory animals; Health code; Supervision in process

在新型冠状病毒肺炎疫情中, 实验动物作为医学和生命科学研究必不可少的材料, 涉及的生物安全问题已成为公众关注的一个焦点^[1-2]。因此, 进一步加强实验动物的质量控制和使用过程中的生物安全管理具有非常重要的意义^[3]。其中, 在实验动物的生产、运输和使用过程中, 如何高效、简便地进行动态记录、监管, 是需要解决的关键问题^[4]。

另一方面, 加强实验动物行政许可的事中监管是当前国家“放管服”改革的一个重要内容。实验动物行政许可管理的难点在于生产、运输和

使用整个过程中的质量控制和动态监管^[5]。因此, 为保证实验动物从具有生产许可证的生产商, 通过合格的运输方式, 到达具有使用许可证的设施, 以及开展实验活动的整个过程实现闭环运行, 并受到动态的监管, 就需要探索更高效的信息管理方法。

1 实验动物健康码小程序设计

1.1 健康码小程序的优势

目前使用的个人健康码, 是以真实数据为基础, 由市民或者返工返岗人员通过网上自行申

[基金项目] 国家重点研发计划课题(2018YFC1200302)

[作者简介] 姜 鲲(1972—), 女, 助理研究员, 研究方向: 科技信息管理。E-mail: 469809288@qq.com

[通信作者] 汤宏斌(1971—), 男, 教授, 研究方向: 实验动物感染与免疫。E-mail: 00300822@whu.edu.cn

报,经后台审核后,生成独属于个人的二维码;其作为个人在当地出入通行的一个电子凭证,是一种微信小程序(**wechat mini program**)。微信小程序不需要下载安装即可使用,用户扫一扫或搜一下即可在微信中打开;其体量较小,无需担心占用手机内存、影响运行速度等问题,同时又具有满足用户需求、使用方便的特点,体现了“用完即走”的理念,真正实现了应用“触手可及”的体验。

利用健康码小程序进行实验动物管理,可以实现以下功能:

(1) 线下扫码:实验动物责任人(如用户)可以在小程序中使用扫码功能分享内容,即将内容转化为二维码,直接发送至用户的任何一个好友或者微信群(如实验动物设施的管理人员)。实验动物行政监管方也可以通过这种方式分享自己的服务通知和消息通知,推送给已关注公众号的用户。用户不仅能够及时地接到消息,还能够通过小程序采用微信聊天方式,将文字、图片等信息直接反馈给监管方,极大地提升了用户和监管方的工作效率。

(2) 对话分享:用户可以分享小程序或其中的任何一个页面给好友或群聊,有利于推广实验动物健康码,保证健康码在实验动物整个生产、运输和使用流程中传递,促进不同单位之间和不同省份之间的实验动物信息交互和共享。同时利用健康码小程序填写和更新实验动物信息,保持实验动物管理信息的实时和准确性。

(3) 历史列表:用户使用过的实验动物健康码小程序会被放入手机微信小程序列表,以利于下次非常方便地随时上传实验动物的质量和使用信息,也利于后续的查询工作。

1.2 实验动物健康码的特点

实验动物健康码,是以实验动物质量合格证信息为基础,由实验动物生产单位自行网上申报,审核后生成一批动物的二维码;其作为实验动物供应、运输和使用的一个电子凭证,全省通用,且与纸质凭证相比,具有信息量大、易保存、查阅使用方便等优点。

小程序的特点在于微信提供丰富的框架组件和应用程序接口,以供开发者调用,具体包含:

界面、视图、内容、按钮、导航、多媒体、位置、数据、网络 and 重力感应等。在这些组件和接口的帮助下,建立在微信上的小程序在运行能力和流畅度上可以保持和原生程序(**native application**)一样。

实施实验动物健康码管理,可以有效地把实验动物与生产、运输和使用的相关责任人进行绑定,从而在符合实验动物许可证审批的条件下,通过责任人的移动手持终端,对实验动物的全流程状态进行动态管理。将固定的静态信息转变为实时动态数据,基于大数据系统,对实验动物的流动路径进行统计,可以更有效地管理实验动物的使用过程。

实验动物健康码的使用特点表现为两个方面:一是空间上具体定位,根据发放实验动物许可证的总体数据,可以通过扫码定位,了解具有健康码的实验动物是否进入许可的实验动物设施中;二是时间上连贯衔接,拥有健康码的实验动物进出设施的次数、饲养时间的长短以及运输移动的时间都可以被关联。当来源不明的实验动物进入设施,或实验动物离开设施时,这些信息都能够被快速发现并记录在案。

1.3 实验动物健康码的标准

直观来看,从腾讯与支付宝申请个人健康码填写的内容信息基本相同,主要包括身份、健康状况、居住位置和出行信息。相应地,实验动物健康码的内容应根据监管要求进行针对性设计,以保证健康码作为实验动物的电子身份证和反映质量状况的动态电子信息标签。因此,实验动物健康码应包括实验动物质量合格证的内容信息,以及运输、进出设施和安乐死、废物处置的信息,以此作为实验动物健康码的数据信息标准,具体如图1所示。一般来说,生产供应商提供的一个质量合格证应对应一个健康码,作为母码;实验动物进入具有使用许可证的设施时,根据饲养环境和使用内容的不同,以及安乐死不同时间可以生成若干子码;若实验动物进入没有使用许可证的设施,健康码将变为红色。

在健康码小程序中,视图、内容、位置等框架组件及接口可以有效地解决实验动物使用流程中的定位问题,以及使用过程中动物的数量、

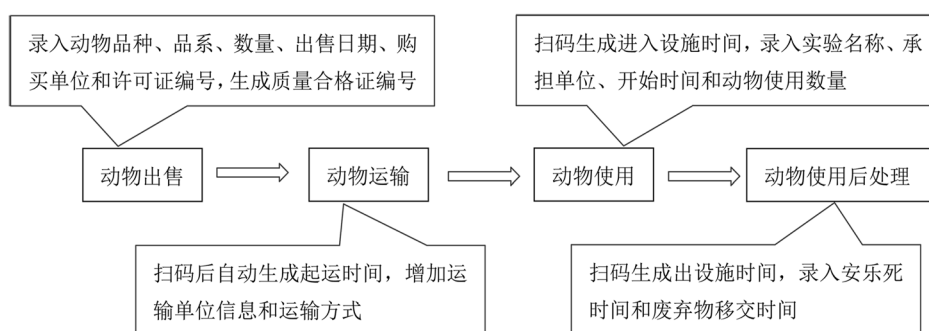


图1 实验动物健康码的标准内容及使用流程

Figure 1 Standard contents and procedures of laboratory animal health code

使用时间、合格证号与动物批次的信息更新和实时上传问题。因此, 可以结合实验动物质量合格证的填写信息, 以及动物运输和使用情况进行信息采集。在实验动物运输过程中, 通过扫码进入小程序, 记录起运时包装箱的完整性、温度限制指示条带颜色、动物运输密度, 以及到达时间、包装箱的完整性、温度限制指示条带颜色等。如果运输时间超过 24 h、温度限制指示条带颜色发生变化, 或者实验动物在使用过程中一旦离开设施, 健康码将变为黄色。

2 实验动物健康码互认

2.1 健康码互认存在的问题

个人健康码, 由于标准不统一、数据不能共享、缺乏互认机制, 其推广和应用受到制约。数据不能共享, 主要是指本省采集的人员健康信息数据, 外省没有授权而无法访问和获取。数据标准不统一, 表现为采集的健康信息内容及格式标准不一致, 这样为标准化地判断个体健康状态增加了难度。

实验动物行政许可属于省级行政管理, 实验动物健康码的设计框架也是基于省级行政区划内实现数据统一管理和共享。因此, 跨省之间的实验动物数据交换, 同样也存在数据标准需要统一、选择何种数据共享方式的问题。

2.2 解决健康码互认的途径

在个人健康码各地互通互认过程中, 全国一体化政务服务平台依据《全国一体化政务服务平台防疫健康信息码接口标准》, 提供 3 种跨省份互认共享实现方式。第一种是在不改变地方现有

健康码的情况下, 通过跨地区防疫健康信息数据共享, 在本地健康码中增加跨地区互认功能。第二种是各地健康码与全国一体化政务服务平台的防疫信息码对接, 以全国一体化政务服务平台的防疫信息码为中介进行转换, 从而实现跨地区的健康码互认。第三种是未建设本地健康码的地区, 可直接采用全国一体化政务服务平台的防疫信息码, 同时结合本地防疫健康相关信息, 实现跨地区互通互认。

实验动物健康码与个人健康码类似, 可通过各省互认建立统一的数据格式标准和内容要求, 实现全国一码通行。实验动物质量合格证的信息格式已经被全国各省市所认同, 实验动物健康码的信息格式可以套用质量合格证的信息内容, 以便互认。同时, 要将《实验动物许可证管理办法(试行)》作为全国实验动物健康码一码通行实施过程中的主要依据, 严格按照许可证管理办法进行实施工作。为了提高信息安全和保护力度, 可以取消原固定端网络信息管理中的《设施使用证明》管理方式; 而在全流程管理过程中, 只以实验动物的流动信息数据为管理对象, 不进行实验内容管理, 以保护动物实验者的数据安全。实验动物健康码跨省互认的解决方法可采用本地健康码+跨省互认功能, 双方通过扫码验证方式, 提取对方省份出示的实验动物健康码信息, 以此确认应采取的管控措施, 如图 2 所示。

3 健康码在实验动物管理中的运用

从实验动物管理的角度看, 健康码可以分为动物信息版和管理员版两种小程序。

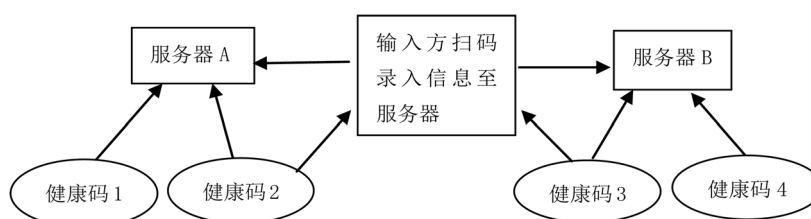


图2 实验动物健康码的跨省互认架构设计

Figure 2 Cross-provincial mutual recognition framework of laboratory animal health code

3.1 动物信息版

除上传实验动物的基本信息外, 还应对实验动物流动过程中的采集结果进行确认, 然后提交、上传到后台, 并能够查看数据采集的历史信息。数据采集时, 可通过手动输入+获取定位的方式获取采集点位置信息, 并与许可证的位置信息一致。

实验动物健康码同样分为红、黄、绿三色, 结合自主监测信息和主管部门管理审核, 自动生成二维码, 作为动物实验期间的电子凭证。绿码表示微生物及寄生虫控制质量合格; 黄码表示可能存在污染的风险, 如在实验期间, 动物曾离开过实验动物设施; 红码表示经监测该动物饲养设施或该批动物已发生污染。

3.2 管理员版

该版本针对健康码的管理人员。管理员按照颁发的实验动物许可证划分, 每个许可证设施机构设置自己的管理员。该版本经过授权可以对实验动物设施内的所有实验动物信息进行查看、监管。例如, 审查设施许可范围与实验动物信息是否匹配, 拒绝在许可范围之外生产、使用实验动物; 提醒具有黄码的实验动物所有人, 注意隔离相应实验动物; 告知具有红码的实验动物所有人立即淘汰, 终止实验; 拒绝没有健康码的动物进入设施。

动物实验结束后, 设施管理员通过健康码采集的信息, 形成实验动物流程单, 以此作为完成实验动物全部流程的凭据。

4 总结与展望

通过实施实验动物健康码使用方案, 可将原来固定端形式的网络管理转换为更灵活、更方便的移动端管理^[6]。这种改变符合实验动物的使用流程特点, 满足了随时更新实验动物相关信息

的需求, 从而将极大提高实验动物事中监管的效率^[7]。首先, 通过健康码, 实验动物的质量信息可以实时地公开获取, 提高管理效率。其次, 实验动物的污染风险可以通过健康码实时提醒责任人, 从而及时控制生物安全风险。第三, 作为行政许可管理的主管部门, 可以通过后台实时了解监控所属区域存在的实验动物状况。

随着 5G 网络技术的普及, 使用移动手持终端管理实验动物信息将成为不可阻挡的趋势, 这将有力地推动我国实验动物合理、规范、安全、高效地进行流通和使用。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] PULLIUM J K. Care for laboratory animals during COVID-19 crisis[J]. Nature, 2020, 579(7800):497. DOI:10.1038/d41586-020-00869-w.
- [3] 侯佩兴, 陈栋, 王长松. 对实验动物监督管理的探讨[J]. 中国动物检疫, 2019, 36(7):52-54. DOI:10.3969/j.issn.1005-944X.2019.07.013.
- [4] 李会萍, 王晓明, 杨锦淳, 等. 2018年我国实验动物许可证管理的现状及分析[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(7):131-136. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.07.022.
- [5] 邹岩柏, 刘福生, 赵明海, 等. 动物实验管理系统的特点分析[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(8):72-74. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2013.08.016.
- [6] 徐孝平, 张利棕, 潘永明, 等. 基于浏览器/服务器模式架构的高校动物实验管理系统开发与应用[J]. 实验动物与比较医学, 2019, 39(3):239-243. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.03.012.
- [7] 顾祖曦, 张超超, 蔡贞贞, 等. 动物实验信息化管理系统的开发和应用[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(3):219-225. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2016.03.013.

(收稿日期: 2020-06-11 修回日期: 2020-11-12)

高脂饲料诱导代谢性疾病动物模型

罗建波¹, 李军晖¹, 王海江¹, 周小玉¹, 曾 涛¹, 周 佳¹, 朱献军²

(1. 四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所, 成都 610212; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院人类疾病基因研究四川省重点实验室, 成都 610072)

[摘要] 采用饲喂高脂饲料的方式造成动物代谢异常, 此法常被用来探索疾病的发生、发展规律, 为临床研究提供理论依据。本文综述了常用高脂饲料诱导的代谢性疾病动物模型, 并探讨疾病模型形成机制及各营养成分的作用方式, 为相关研究人员建立疾病模型时提供理论和实践参考。

[关键词] 高脂饲料; 代谢性疾病; 动物模型; 作用机制

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0070-09

Metabolic Disease Animal Models induced by High-fat Diets

LUO Jianbo¹, LI Junhui¹, WANG Haijiang¹, ZHOU Xiaoyu¹, ZENG Tao¹, ZHOU Jia¹, ZHU Xianjun²

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610212, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory for Human Disease Gene Study, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

Correspondence to: ZHU Xianjun, E-mail: Xjzhu2@126.com

[Abstract] High-fat diets are often used to induce models with nutritional abnormalities and stimulate human diseases, which are used to explore the mechanism of disease development and widely used in clinical hypothesis study. In order to provide theoretical and practical basis for researchers in this field, recent advances on animal models of metabolic diseases induced by high-fat diets were reviewed, and the mechanisms underlying disease development and the respective roles of nutrient components of the diets were also discussed.

[Key words] High-fat diet; Metabolic diseases; Animal model; Mechanisms

为给疾病的治疗制定科学的诊疗方案, 人类疾病动物模型常应用于前期的理论研究。利用高脂日粮中各养分的缺乏、过量以及比例失衡, 观察疾病发展过程, 以此获得基础数据^[1]。成熟的动物模型表现的疾病发生过程与人类相似, 具备实验动物死亡率低、操作简单、可重复性强、成本低廉等特点^[2]。近年来, 高脂饲料配方被广泛应用于制作代谢性疾病动物模型, 并取得了大量的研究成果。为给广大科研人员研究提供理论和实践依据, 现对常见高脂日粮诱导的代谢性疾病模型及其作用方式进行综述。

1 代谢性疾病模型

1.1 高脂血症

高脂血症是动脉粥样硬化、脑卒中和糖尿病等疾病的主要诱因, 常表现为血液中三酰甘油和胆固醇水平异常^[3]。诱导该模型的饲料主要以基础料+胆固醇+猪油为主。由于大鼠无胆囊结构, 缺乏对饲料中胆固醇等成分的消化能力, 因此用大鼠建立的高脂血症疾病模型中, 丙基硫氧嘧啶(0.2%)常被添加进造模饲料配方^[4]。血清中的总胆固醇、三酰甘油和脂蛋白水平等指标变化常被用来反映模型建立情况^[5-9](表1)。

[基金项目] 实验动物代谢性疾病模型饲料的开发与应用(2018YSZH0026)

[作者简介] 罗建波(1987—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 实验动物饲料营养。E-mail: ljbfm@foxmail.com

[通信作者] 朱献军(1974—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 疾病基因研究。E-mail: Xjzhu2@126.com

表 1 高脂日粮诱导下的高脂血症模型
Table 1 High-fat diet induced hyperlipidemia animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	160~200	4	血清 TC、LDL-C 升高, 肝脏系数升高	10.0% 猪油、2.0% 胆固醇、0.2% 胆盐、87.8% 基础日粮, 50 mg · kg ⁻¹ · d ⁻¹ 丙基硫氧嘧啶灌胃	[5]
SD 大鼠	雄	80~100	8	血清 TC、TG 和 LDL-C 升高	12.0% 猪油、10.0% 蛋黄粉、2.0% 胆固醇、0.5% 胆盐、75.5% 基础饲料	[6]
C57BL/6 小鼠	雄	19~22	6	血清 TC、TG 和 LDL-C 升高	20.0% 蔗糖、15.0% 猪油、10.0% 酪蛋白、1.2% 胆固醇、0.6% 碳酸氢钙、0.4% 石粉、0.4% 预混料、0.2% 胆酸钠、52.2% 基础饲料	[7]
SD 大鼠	雄	180~220	8	肝脏/体质指数升高, 血清 TG、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 肝细胞脂肪病变	20.0% 蔗糖、15.0% 猪油、10.0% 酪蛋白、1.2% 胆固醇、0.2% 胆酸钠、0.6% 磷酸氢钙、0.4% 预混料、0.4% 石粉、52.2% 基础饲料	[8]
Wistar 大鼠	雄	180~200	4	血清 TC、TG、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低	2% 胆固醇、1% 胆盐、97% 基础日粮、1 mL 椰子油	[9]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇。

血液中的胆固醇和三酰甘油需要以脂蛋白的形式运输到体内组织进行代谢。高热量和高胆固醇日粮能够提高实验动物肝脏组织中胆固醇的含量, 影响脂蛋白受体合成及其表面受体活性, 导致血液中胆固醇和三酰甘油的转运受阻而不断在血液中蓄积。

1.2 动脉粥样硬化

当机体发生代谢异常时, 动脉内膜脂质沉积, 纤维基质成分和平滑肌的细胞增殖引起内膜灶性纤维性增厚及粥样斑块形成, 使动脉壁变厚, 管腔狭窄, 最终导致动脉粥样硬化形成^[10]。诱导该模型的饲料以基础料+胆固醇+猪油+糖为主^[11-14](表 2), 并在动物实验前期灌胃维生素 D3 (7 × 10⁵ U/kg)。研究认为, 大剂量维生素 D3 能够引起动脉钙超负荷, 使血浆脂蛋白易沉积在内皮下层, 动脉发生钙化, 增加脂质对内皮的损伤作用^[15]。动脉粥样硬化是发生在动脉壁的一种慢性疾病过程, 主要由于炎性细胞的聚集以及炎性因子的释放引起^[16]。在动脉粥样硬化发病初期, 血液中的低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 与单核细胞在动脉中内皮细胞受

损的情况下直接进入动脉壁, 血液中的 LDL 因被氧化, 不断引起单核细胞趋化, 同时诱导单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 产生, 促使内膜下的单核-巨噬细胞分化成泡沫细胞, 疾病不断发展。在核转录因子-κB (nuclear transcription factor-κB, NF-κB) 途径介导下生成的炎性因子、抗氧化酶和黏附分子等进一步诱发动脉粥样硬化形成与发展^[17]。

1.3 2 型糖尿病

动物机体自身虽然能够产生胰岛素, 但分泌量相对不足, 引发血糖升高, 即产生 2 型糖尿病。诱导该模型的饲料以基础料+胆固醇+猪油为主; 为诱导模型的形成, 实验通过高糖高脂饲料喂养 2 个月后, 采用腹腔注射的方式, 用剂量为 30 mg/kg 的亚致病链脲佐菌素直接破坏胰岛 β 细胞, 导致胰岛素分泌异常。2 型糖尿病模型除监测血清中总胆固醇、脂类和脂蛋白等指标外, 还增加了氧化应激指标, 例如丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性等, 并辅以口服葡萄糖耐量试验、肝脏和胰腺切片法观察模型建立情况^[18-20](表 3)。研究认为, 由氧化应激引起的 β 细胞

表 2 高脂日粮诱导的动物动脉粥样硬化模型

Table 2 High-fat diet induced atherosclerosis animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
C57BL/6J 小鼠	雌	6 周龄	14~16	主动脉壁损伤	30.0% 可可脂、5.0% 胆固醇、2.0% 胆酸钠、30.0% 酪蛋白、5.0% 纤维素、4.0% 维生素预混料、4.0% 矿物质预混料、6.5% 蔗糖、6.5% 糊精、6.5% 葡萄糖、0.5% 氯化胆碱	[11]
Wistar 大鼠	雌	200	9	体质量降低, 血清 TC、TG 和 LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 主动脉内膜损伤	10.0% 猪油、5.0% 蔗糖、3.5% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、0.2% 丙基硫氧嘧啶、80.8% 基础饲料	[12]
Wistar 大鼠	雄	200	9	血清 TC、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 主动脉内出现明显斑块	0.15% 胆固醇、21.00% 猪油、78.85% 基础饲料	[13]
Wistar 大鼠	雄	150~180	4	血清 TC、CRP、IL-1、MCP-1 升高, 新生血管密度增多	10.0% 猪油、10.0% 蛋黄粉、8.0% 全脂奶粉、5.0% 酪蛋白、3.0% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、63.5% 基础饲料	[14]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇, CRP 指 C 反应蛋白, IL-1 指白细胞介素 -1, MCP-1 指单核细胞趋化蛋白 -1。

表 3 高脂日粮诱导的动物 2 型糖尿病模型

Table 3 High-fat diet induces type 2 diabetes animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
Wistar 大鼠	雄	190~210	12	体质量、血清葡萄糖、TG、MDA、LDH、ALT 水平和肝指数升高; 血清出现脂肪空泡	6.5% 大豆、11.0% 酪蛋白、23.0% 猪油、0.6% 石粉、0.2% 氯化钠、40.0% 小麦、1.0% 磷酸氢钙、15.7% 果糖、2.0% 维生素矿物质添加剂	[18]
Wistar 大鼠	雄	180~200	12	体质量和空腹血糖升高	20.0% 蔗糖、10.0% 猪油、2.5% 胆固醇、67.5% 基础日粮	[19]
SD 大鼠	雄	180	6	空腹血糖、空腹胰岛素升高	10% 猪油、1% 胆固醇、89% 基础饲料	[20]

注: TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, MDA 指丙二醛, ALT 指丙氨酸转氨酶。

功能受损是引发 2 型糖尿病的核心。在机体发生氧化应激后, 促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平失衡, 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 -3 (Caspase-3) 活化作用增强, β 细胞凋亡数量上升^[21]。同时, 在超量自由基作用下, c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路被活化, 胰十二指肠同源框因子 -1

(pancreatic duodenal homeobox-1, PDX-1) 活性降低, 诱发细胞核内的 PDX-1 移至细胞质, 使 PDX-1 与胰岛素启动子不能结合, 降低胰岛素基因表达和分泌量, 动物体内血糖水平维持功能下降, 导致 2 型糖尿病发生^[22]。

1.4 胰岛素抵抗

研究指出, 受体部位对体内外胰岛素的敏感

性下降是直接造成胰岛素抵抗的核心机制。临床研究认为，胰岛素抵抗容易引起糖尿病和动脉粥样疾病的发生率升高，同时与肥胖和心血管等疾病有密切联系^[23]。诱导该模型的饲料以基础料 + 胆固醇 + 猪油 + 糖为主，并可通过增加糖分含量缩短模型建立周期^[24-26](表 4)；高脂饲料在制备环节中，蛋白质、脂肪与碳水化合物充分混合加热，导致高级糖化产物 (advanced glycation

表 4 高脂日粮诱导的动物胰岛素抵抗模型
Table 4 High-fat diet induced insulin resistance animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
日本白兔	雌雄各半	2 200	36	葡萄糖耐受能力降低，胰岛素水平升高	42.00% 苜蓿、6.00% 大豆、1.00% 玉米、1.00% 小麦、2.00% 酒化酶原、1.50% 燕麦、1.25% 磷酸二氢钙、3.25% 维生素矿物质、0.50% 盐、1.50% 石粉、30.00% 糖、10.00% 猪油	[24]
SD 大鼠	雄	180	17	葡萄糖输注率降低，空腹血浆胰岛素水平升高	70% 基础饲料、10% 糖、20% 猪油	[25]
SD 大鼠	雄	170~180	6	空腹胰岛素水平、血清内脂素胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数显著升高	15.00% 猪油、20.00% 蔗糖、5.00% 蛋黄粉、0.20% 胆盐、0.05% 维生素、0.15% 氯化胆碱、0.20% 矿物质、59.40% 基础饲料	[26]

end-products, AGEs) 的形成，更加有利于该疾病模型的建立^[27]。研究认为，胰岛素抵抗的发生主要是由于长期血液中高水平的游离脂肪酸 (free fat acid, FFA) 引起内质网应激、自由基侵袭、细胞凋亡和炎症反应，使正常的胰岛素信号转导不能实现，引起胰岛素抵抗发生；其中，信号途径 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和核因子- κ B 激酶抑制剂/核转录因子- κ B (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase/nuclear transcription factor- κ B, IKK/NF- κ B) 之间交互作用造成的损伤是 FFA 诱发胰岛素抵抗的主要诱因^[28]。血液 FFA 可使胰岛素受体的结构因发生磷酸化而改变，影响正常的酪氨酸磷酸化和磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3-kinases, PI3Ks) 活性，胰岛素信号通路受阻。此外，活化后的丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinases, AKT) 可以通过调节包括糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 在内的一系列下游分子而增加糖原生成，同时叉头框转录因子 O 亚族 1 (forkhead box O1, FoxO1) 磷酸化后导致自

身功能异常，影响磷酸烯醇式丙酮酸激酶 (phosphoenol- pyruvatecarboxy-kinase 1, PCK1) 和葡萄糖-6- 磷酸酶 (glucose 6 phosphatase, G6Pase) 在体内的糖异生作用，增加胰岛素抵抗的发生风险^[29]。

1.5 肥胖

动物摄入热量高于消耗热量，即造成体内脂肪过量、分布异常，引发肥胖症的发生^[30]，其主要特征为血脂水平的提高以及体质量、腹腔脂肪质量、Lee's 指数改变等^[31]，可增加其他代谢性疾病的发病率^[32]。肥胖疾病模型常选择 SD 大鼠、C57BL/6J 小鼠、ICR 小鼠和 KM 小鼠^[32]。诱导该模型的饲料以基础料 + 猪油为主，模型建立时间为 6~8 周^[31,33-34](表 5)。研究发现，在高脂或高脂高糖饲料造模结果中，由于部分动物的采食状况存在差异，影响营养性肥胖模型的建立，因此，动物样本需要加倍，防止因实验动物数量不足而影响下一步实验的正常进行^[35]。高脂饲料诱导后，过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator activated receptors α , PPAR α) 和 PPAR γ 表达水平上调，导致脂蛋白

脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 活性提高, 三酰甘油解离为 FFA 且被脂肪组织大量吸收; 在脂肪组织二酰甘油的酰基转移酶 (diacylglycerol acyl-transferase, DGAT) 表达上调的情况下, 机体中三酰甘油重新贮存。固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol-regulatory element binding protein-

1c, SREBP-1c) 在调节相关基因表达中发挥重要作用。研究发现, 高脂饲料通过破坏体内胰岛素和葡萄糖平衡, 激活 PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 1 (mammalian target of rapamycin 1, mTORC1) 途径, 上调脂肪代谢和葡萄糖代谢调控因子 SREBP-1c 及其下游脂肪合成相关靶基因如

表 5 高脂日粮诱导下的动物肥胖模型

Table 5 High-fat diet induced obesity animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	6 周龄	8	体质量、血 TC、TG、LPL 升高; 血 HDL-C 降低	32.0% 玉米、9.7% 小麦、40.5% 大豆、3.5% 鱼粉、2.5% 乳清粉、1.2% 石粉、0.8% 磷酸氢钙、3.0% 蔗糖、5.5% 猪油、0.3% 盐、1.0% 维生素矿物质预混料	[32]
ICR 小鼠	雄	20	6	体质量、血 TG、葡萄糖升高	15% 猪油、20% 橄榄油、5% 蛋黄粉、10% 酪蛋白、50% 基础日粮	[33]
Wistar 大鼠	雄	70	6	体质量、脂肪质量、瘦素水平升高	10% 奶粉、10% 猪油、5% 蛋黄粉、75% 基础饲料 (鱼肝油 10 滴)	[34]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LPL 指脂蛋白脂肪酶, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇。

低密度脂蛋白受体基因 (low density lipoprotein receptor, LDLR)、乙酰辅 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 和脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN) 等的表达, 引起糖脂代谢紊乱和脂肪组织的异位沉积^[36]。另一方面, 脂肪分解酶如脂肪三酰甘油酯酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL)、脂肪组织激素敏感脂酶 (hormone-sensitive triglyceride lipase, HSL) 及三酰甘油水解酶 (triacylglycerol hydrolase, TGH) 表达下调, 引起动物体质增加、腹腔脂肪增多等肥胖疾病的典型症状^[32]。

1.6 非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种以非饮酒方式作用下引起的肝细胞病变, 高水平的血脂及脂肪过量沉积和胰岛素敏感性降低都可诱发 NAFLD 的发生^[37]。诱导该模型的饲料以基础料 + 胆固醇 + 胆盐 + 猪油 + 糖为主^[38-41] (表 6), 除血清常规指标外, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和转化生长因子- β 1 指标也常用于检测模型建立情况。研究发现, 高脂日粮诱发 NAFLD 主要是依靠两条途径调节细胞凋亡: (1) 脂肪代谢紊

乱。高脂日粮导致肝脏细胞内 FFA 持续积累, 引起肝脏中脂肪代谢平衡破坏, 降低肝脏组织中脂肪酸 β 氧化能力, 同时引起合成或分泌 VLDL 的能力下降, 减少三酰甘油转运出肝脏, 导致细胞脂肪变性, 发生脂肪肝病, 破坏细胞线粒体的超微结构, 造成呼吸链因磷酸化发生障碍, 电子传递受到干扰, 分子氧因获得电子而攻击机体正常细胞, JNK/Bcl-2 信号转导通路被激活, 细胞走向凋亡。(2) 胰岛素通路受阻。高脂日粮不断刺激机体分泌胰岛素, 使其受体底物发生磷酸化, 结构发生改变, PI3K 活性下降, 导致胰岛素敏感性下降, 直接引发线粒体依赖途径下的细胞凋亡^[42-43]。

2 诱导建模的高脂饲料成分

建模饲料以基础日粮和高热量成分为主要构成, 辅以添加帮助脂肪消化和破坏动物特定组织的额外成分, 通过调整各成分比例来满足不同的实验需求。

2.1 基础日粮

基础日粮含有促进动物正常生长必需的营养

表 6 高脂日粮诱导下的动物非酒精性脂肪肝模型
Table 6 High-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease animal models

动物	性别	初始体质量 /g	成模时间 / 周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	140~160	24-28	血清 FFA、TC、TNF- α 和 ALT 升高，出现脂肪肝和胰岛素抵抗	2.0% 胆固醇、10.0% 猪油、88.0% 基础日粮	[38]
C57BL/6J 小鼠	雄	18~20	8	血清 TG、TC、ALT、AST 和 GGT 升高，肝脏 p62、PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 蛋白表达升高	68.5% 基础日粮、15.0% 猪油、1.0% 胆固醇、0.5% 胆盐、15.0% 糊精	[39]
SD 大鼠	雄	180~200	12	血清 ALT、AST、TG、TC、LDL-C MDA 和胰岛素升高；血清 HDL-C、SOD 活性、胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数降低，肝脏 TNF- α 表达升高；出现肝纤维化	10.00% 猪油、2.50% 葡萄糖、2.00% 胆固醇、0.25% 胆酸、85.25% 基础日粮	[40]
Wistar 大鼠	雄	180~200	10	血清 TG、TC、ALT 和 AST 活性升高；肝脏 MDA 含量增加，SOD 活性降低；肝脏脂肪变性严重，并伴有炎性细胞浸润及坏死	15.0% 猪油、2.8% 胆固醇、0.4% 胆酸钠、81.8% 基础日粮	[41]

注：FFA 指游离脂肪酸，TC 指总胆固醇，TNF- α 指肿瘤坏死因子- α ，ALT 指丙氨酸转氨酶，TG 指三酰甘油，AST 指天冬氨酸转氨酶，GGT 指 γ -谷氨酰转氨酶，PI3K 指磷脂酰肌醇 3-激酶，p-AKT 指磷酸化蛋白激酶 B，p-mTOR 指磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白，MDA 指丙二醛，LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇，HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇，SOD 指超氧化物歧化酶。

物质，满足动物营养需求，其所含的营养浓度需要整体考虑营养参数和各成分添加比例，使高脂日粮中各营养成分满足动物需要。一般情况下，酪蛋白、蛋黄粉和奶粉可用于补充高脂日粮中的蛋白质和氨基酸，磷酸氢钙和石粉用于补足动物钙和磷等需要，维生素（矿物质）添加剂用于补充实验动物的维生素（微量元素）需要，不足部分可用玉米淀粉填充。

2.2 胆固醇和胆盐

在模型饲料中加入胆固醇，提高动物体内该物质水平，引发炎症反应和氧化应激，促进疾病的形成。因此，为构建动物模型，胆固醇是模型饲料的重要成分^[4]。需要注意的是，胆固醇添加比例过高容易导致腹泻，造成动物死亡，而比例太低时造模周期长，不易形成病变，故常用比例建议为 5% 以下。实验研究发现，饲料中的胆盐虽然可以帮助促进脂肪在体内的吸收利用，但是胆盐味苦，会严重影响动物食欲，且易引起体质量下降；当胆固醇添加量大于 2% 时，考虑加入胆盐，一般添加比例为 0.5%。值得注意的是，在小鼠模型饲料中，考虑到小鼠对胆固醇的消化能力较弱，常在胆固醇含量为 1% 时就加入一定比例的胆

盐，以帮助建立动脉粥样硬化模型。动物实验过程中，总胆固醇及 LDL 水平受饲料中胆固醇及胆盐的影响，其中饲料成分中胆固醇的作用更大^[4]。

2.3 糖类

在高脂高糖饲料配方中，蔗糖和果糖是模型诱导成功的关键成分。果糖和葡萄糖是具有相同分子式，而结构上有较大差异的两种化合物，可通过有机反应相互结合生成蔗糖。蔗糖是由葡萄糖与果糖中功能基团通过缩合脱水作用生成，其中蔗糖中的果糖成分在高糖饲料诱导的胰岛素抵抗中起主要作用。添加糖类一方面可帮助诱导疾病的发生和发展，另一方面则通过改善日粮的适口性，增加动物的采食；一般添加比例为 20% 以下，添加量过高不利于饲料加工成型，同时糖类成分过多会破坏配方设计中营养的整体平衡。有研究者认为，长时间采食高糖类（蔗糖或果糖）物质可以显著促进布劳特菌、罗伊乳杆菌和脆弱拟杆菌增殖，抑制粪肠球菌和黄色瘤胃球菌增殖，从而造成肠道菌群紊乱，导致肠道物理屏障作用削弱，提高肠道内脂多糖的含量和通透性，脂多糖通过与肠细胞中 Toll 样受体 4 结合而诱发 NF- κ B 途径激活，提高促炎因子的表达，诱

导氧化应激的发生。此外,上调的促炎因子可以通过促进糖尿病的发生和发展,导致机体对胰岛素的敏感性降低,产生胰岛素抵抗,激活还原型辅酶 II 即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),诱导超氧阴离子产生,使机体进一步遭受氧化损伤^[44]。

2.4 脂肪

脂肪是机体重要的供能物质。饲料中脂肪的加入能够保证能量和必需脂肪酸的供给,也可帮助溶解饲料中的脂溶性物质;然而,该物质超过动物正常需要量时,会直接导致血脂水平异常,引发心血管和肥胖等疾病,造成机体代谢异常,使自由基产生量超过机体清除能力,诱导氧化应激发生^[45]。诱导疾病模型的饲料中常添加的脂肪源有猪油、棕榈油和椰子油等,理论上饲料中脂肪含量越高越有利于疾病模型的建立,但当脂肪比例大于 20% 时,加工工艺的要求会增高,不利于实验饲料制备、储存及定量饲喂。而且,饲料中过高比例的脂肪会直接降低动物采食量,故一般添加比例建议不高于 20%^[45]。

猪油是一种饱和高级脂肪酸,外形为黄色、半透明液体状。研究认为,过量食用饱和脂肪会引发肝内三酰甘油水平升高,导致脂肪酸在肝脏中蓄积,促进胆固醇合成,诱发机体产生过量自由基,造成线粒体功能受损和胰岛素抵抗^[46]。棕榈油含有丰富的棕榈酸,饮食中高浓度的棕榈油会对肝脏产生毒性作用,主要表现在细胞放射状结构的丧失和细胞体积的缩小,随即细胞遭受不可逆损伤。在哺乳动物细胞模型中,高浓度棕榈酸会直接作用于内质网,破坏细胞器稳态,即内质网应激^[47]。中链脂肪酸和长链脂肪酸是椰子油中的主要脂肪形式。研究认为,与长链脂肪酸吸收不同的是,中链脂肪酸的吸收可通过肠道进入血液,而不需要胆汁酸参与,因此中链脂肪酸更容易被机体利用,可在维持动物体质量的基础上,减少体内脂质的大量蓄积,让血液生化指标保持正常水平,维持机体正常的脂质代谢^[48]。

3 高脂饲料的储存

由于造模饲料含有较高脂肪,饲料在储存过

程中易发生氧化酸败,生成醛、酮、酮酸等物质,降低饲料的适口性和营养价值^[49]。动物摄入氧化酸败的饲料后,氧化产物进入细胞膜,体内吞噬细胞为消灭异物,会产生大量自由基,损害生物细胞功能,造成动物氧化应激。因此,与普通饲料相比,高脂饲料的存储条件更为苛刻。高脂饲料一般对温度、光线和氧气敏感,因此饲料需采用外包装隔绝光照,同时抽尽包装内部空气,并采用⁶⁰Co 辐照灭菌。由于模型建立的实验周期较长,建议以 1 个月的使用量为准,分批定制造模饲料,并存储于-4℃条件下;在使用前,需将带包装的饲料置于常温下,达到室温后,方可开始饲喂,以降低动物消化系统疾病的发生风险。

4 疾病模型的评估

疾病模型的建立需要花费较长时间,也是许多研究的前期基础工作,因此为确保实验顺利实施,从制定配方到进行动物实验都需要严谨规范,并全面评估各个环节。(1) 模型饲料的营养参数评估。在确定模型建立方向的前提下,对高脂饲料中各添加物质的功能进行综合考量,同时对饲料中各项营养素的标准值进行仔细分析,从而构建营养过载或缺乏的动物模型配方。此外,在添加其他成分的前提下,某些营养素含量被稀释,因此应该额外补足各自特定的基础饲料营养成分。实验开始前,需要按照饲料检测标准,准确测定各项参数的实际数值,与理论值进行核对。(2) 动物实验过程的评估。模型建立前期,需要逐步添加高脂饲料,避免营养应激对动物造成影响。模型建立过程中,及时清除动物食槽内的剩余饲料;另外,高脂饲料由于脂肪比例较高,长期暴露空气中容易引发酸败变质,动物采食后易引起腹泻,因此,加料不宜过量。模型建立后期,动物由于肥胖、高血糖和糖尿病等,会出现一系列病变,需加强对微生物的控制,减少实验动物受其他因素的影响。(3) 疾病特异性指标评估。评价模型建立效果,不能仅仅只依据动物生理生化参数是否达到要求,还要考虑疾病的进程。例如,高脂血症和脂肪肝都能够引起血脂升高,单从血脂指标来判断动物疾病模型的建立状况显然不够充分,需要进一步对肝

脏进行病理切片,进一步明确模型阶段,综合考虑机体的整体反应。

5 小结

以基础料+猪油+糖+胆固醇+胆酸为主要成分而配制的高脂饲料,可根据疾病模型、实验动物种类、造模周期和营养需求,调整饲料中各成份的比例,同时考虑加入丙基硫氧嘧啶或注射维生素D3等额外辅助手段,达到建立动物模型的预期。在拟定新的造模饲料配方时,可结合高脂诱导的疾病模型建立机制,参考实验动物本身的代谢规律,考虑实验时间和造模周期,筛选出符合自身实验研究目的的高脂饲料配方,从而提高建模的成功率和有效性,为研究相关疾病提供理论基础。

参考文献:

- [1] 张锦红,曾昭智,江涛.特殊配方饲料应用中存在的问题及对策[J].实验动物与比较医学,2011,31(6):470-472.
- [2] 周迎生.让疾病模型动物的研究成果照亮人类肥胖防控之路[J].中国比较医学杂志,2019,29(10):1-2. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.001.
- [3] 刁婷婷,闵清.高脂血症动物模型研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2018,32(6):541-545. DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2018.06.0541.
- [4] 王点,郭媛媛,邓亚萍,等.从高脂配方和动物特点探讨高脂血症模型的进展[J].医学综述,2015,21(18):3271-3273. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.18.003.
- [5] 郝维佳,杨秋实,李静宜,等.高脂饲料中添加丙基硫氧嘧啶对大鼠血脂、体质量及体脂的影响[J].首都医科大学学报,2018,39(3):385-392. DOI:10.3969/j.issn.1006-7795.2018.03.014.
- [6] 陈剑峰,万勇.不同配方高脂饲料构建高血脂症大鼠模型的比较及评价[J].实验动物科学,2018,35(1):30-34. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2018.01.006.
- [7] 郝继伟,陈超然,杨长永,等.雷帕霉素对高脂血症小鼠的治疗效果及作用机理探讨[J].免疫学杂志,2020,36(2):143-148. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20200024.
- [8] 王燕萍,彭丹虹,刘晓琪,等.高脂饮食喂养建立高脂血症模型的验证及规律探讨[J].中国比较医学杂志,2017,27(1):5-10. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2017.01.002.
- [9] JAIN P G, PATIL S D, HASWANING, et al. Hypolipidemic activity of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats[J]. Rev Bras Farmacogn, 2010, 20(6):969-973. DOI:10.1590/s0102-695x2010005000038.
- [10] 张园,栾靖昀,孙勇,等.脂联素与动脉粥样硬化[J].中国实验诊断学,2018,22(4):748-750. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2018.04.070.
- [11] 王晓纲.白芍总苷对动脉粥样硬化大鼠血流动力学和血液流变学的影响[J].天津中医药,2017,34(7):482-485. DOI:10.11656/j.issn.1672-1519.2017.07.15.
- [12] Ait-Oufella H, Mallat Z, Tedgui A. Atherosclerosis: an inflammatory disease[J]. Sng Thromb Vaiss, 2008, 20(1): 25-33. DOI:10.1684/stv.2008.0228.
- [13] MITRA S, GOYAL T, MEHTA J L. Oxidized LDL, LOX-1 and atherosclerosis[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2011, 25(5):419-429. DOI:10.1007/s10557-011-6341-5.
- [14] PAIGEN B, MORROW A, BRANDON C, et al. Variation in susceptibility to atherosclerosis among inbred strains of mice[J]. Atherosclerosis, 1985, 57(1):65-73. DOI:10.1016/0021-9150(85)90138-8.
- [15] HU Y, SUN B, LIU K, et al. Icaritin attenuates high-cholesterol diet induced atherosclerosis in rats by inhibition of inflammatory response and p38 MAPK signaling pathway[J]. Inflammation, 2016, 39(1):228-236. DOI:10.1007/s10753-015-0242-x.
- [16] 王东风,张瑞芬.两种不同高脂饲料建立大鼠动脉粥样硬化模型的比较[J].湖北中医杂志,2019,41(4):9-11.
- [17] 蔡宏文,缪静,周鑫斌,等.痰瘀同治方调控PPAR γ /NF- κ B通路对大鼠动脉粥样硬化斑块内血管新生的影响[J].中国中西医结合杂志,2017,37(5):579-583. DOI:10.7661/j.cjim.20170315.044.
- [18] WANG S H, HU Y L, YAN Y, et al. Sotetsuflavone inhibits proliferation and induces apoptosis of A549 cells through ROS-mediated mitochondrial-dependent pathway[J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1):235. DOI:10.1186/s12906-018-2300-z.
- [19] KANETO H, MATSUOKA T A, NAKATANI Y, et al. Oxidative stress, ER stress, and the JNK pathway in type 2 diabetes[J]. J Mol Med (Berl), 2005, 83(6):429-439. DOI:10.1007/s00109-005-0640-x.
- [20] GUO X X, WANG Y, WANG K, et al. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2018, 19(7):559-569. DOI:10.1631/jzus.b1700254.
- [21] 高雪,安至超,何其英,等.高脂饲料喂养时间对2型糖尿病肾病大鼠模型的影响[J].中国实验动物学报,2018,26(1):114-119. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.01.018.
- [22] 吴瑛,张勇,姚合斌.高脂联合小剂量链脲佐菌素建立实验性2型糖尿病大鼠模型[J].转化医学杂志,2017,6(6):355-357. DOI:10.3969/j.issn.2095-3097.2017.06.009.
- [23] HOFMANN S M, DONG H J, LI Z, et al. Improved insulin sensitivity is associated with restricted intake of

- dietary glycoxidation products in the db/db mouse[J]. *Diabetes*, 2002, 51(7):2082-2089. DOI:10.2337/diabetes.51.7.2082.
- [24] 田爱平, 郭赛珊, 申竹芳. 高脂饲料与胰岛素抵抗动物模型[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3):267-269. DOI:10.3321/j.issn:1001-1978.2006.03.003.
- [25] 田爱平, 郭赛珊, 申竹芳. 高脂饲料与胰岛素抵抗动物模型[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3):267-269. DOI:10.3321/j.issn:1001-1978.2006.03.003.
- [26] 迟毓婧, 李晶, 管又飞, 等. PI3K-Akt 信号传导通路对糖代谢的调控作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(10):879-885. DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2010.10.014.
- [27] ZHAO S, CHU Y, ZHANG C, et al. Diet-induced central obesity and insulin resistance in rabbits[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2008, 92(1):105-111. DOI:10.1111/j.1439-0396.2007.00723.x.
- [28] 王利, 褚宏恩, 孙兆峰, 等. 胰岛素抵抗模型的建立与评价[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(24):4689-4692. DOI:10.3321/j.issn:1673-8225.2008.24.034.
- [29] 李颖, 翁锡全, 林文弢. 高脂饮食诱导胰岛素抵抗模型大鼠血清内脂素变化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(24):4693-4696. DOI:10.3321/j.issn:1673-8225.2008.24.035.
- [30] 李文梅, 俞捷, 杨静, 等. 肥胖与环境内分泌干扰物暴露的关系及机制[J]. *重庆医学*, 2017, 46(24):3425-3427. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.24.037.
- [31] 桂利斯, 孟永梅. 蒙成药给喜古訥-3 汤对肥胖小鼠的影响[J]. *中国民族医药杂志*, 2017, 23(2):61-64. DOI:10.16041/j.cnki.cn15-1175.2017.02.037.
- [32] 贺艳杰, 李玉华, 卢会芳, 等. 线粒体通路和死亡受体通路在中华眼镜蛇毒组分诱导 KG1a 细胞凋亡中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3):356-360. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2013.03.014.
- [33] 胡孝跃, 杨硕, 孙泽, 等. 浅述高脂饲料构建大鼠肥胖模型过程中需注意问题[J]. *临床医药文献杂志(电子版)*, 2017, 4(37):7151. DOI:10.3877/j.issn.2095-8242.2017.37.013.
- [34] LI S, BROWN M S, GOLDSTEIN J L. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(8):3441-3446. DOI:10.1073/pnas.0914798107.
- [35] LEI F, ZHANG X N, WANG W, et al. Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2007, 31(6):1023-1029. DOI:10.1038/sj.ijo.0803502.
- [36] 陈世伟, 张丁, 刘翠娥, 等. L-肉碱对肥胖模型大鼠体重及脂质代谢的影响[J]. *中国公共卫生*, 2003, 19(5):579-580. DOI:10.3321/j.issn:1001-0580.2003.05.037.
- [37] 何峰, 张雪莲, 温祥臣. 山楂酸对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝模型小鼠炎症反应及氧化应激的影响[J]. *中国药房*, 2019, 30(7):901-905. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.09.
- [38] MUTHULAKSHMI S, SARAVANAN R. Protective effects of azelaic acid against high-fat diet-induced oxidative stress in liver, kidney and heart of C57BL/6J mice[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 377(1-2):23-33. DOI:10.1007/s11010-013-1566-1.
- [39] HAN J W, ZHAN X R, LI X Y, et al. Impaired PI3K/Akt signal pathway and hepatocellular injury in high-fat fed rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48):6111-6118. DOI:10.3748/wjg.v16.i48.6111.
- [40] XU Z J, FAN J G, DING X D, et al. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(4):931-940. DOI:10.1007/s10620-009-0815-3.
- [41] 陆奇群, 张曦. 白藜芦醇通过诱导自噬改善高脂饮食小鼠非酒精性脂肪肝[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2018, 28(1):13-15, 20, 84.
- [42] HONG X Z, LI L D, WU L M. Effects of fenofibrate and Xuezhikang on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(1/2):27-35. DOI:10.1111/j.1440-1681.2007.04547.x.
- [43] 瞿娟, 吴双贵, 吴甜, 等. 黄瓜香对高脂饲料诱导的大鼠非酒精性脂肪肝保护作用研究[J]. *临床进展*, 2019, 9(1):7-12. DOI:10.12677/ACM.2019.91002.
- [44] ROSAS-VILLEGAS A, SANCHEZ-TAPIA M, AVILA-NAVA A, et al. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress[J]. *Nutrients*, 2017, 9(4):393. DOI:10.3390/nu9040393.
- [45] 周锴, 吴莉芳, 瞿子惠, 等. 饲料脂肪水平对鱼类生长、抗氧化及脂肪酸组成影响的研究[J]. *饲料工业*, 2018, 39(8):26-31. DOI:10.13302/j.cnki.fi.2018.08.004.
- [46] 王吉, 严思思, 肖海思, 等. 不同植物油与猪油搭配食用对肝功能、肝脏抗氧化能力及肝脂的影响[J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(9):71-75. DOI:10.19870/j.cnki.11-3716/ts.2019.09.016.
- [47] 丁倩雯. 食源性棕榈酸诱导斑马鱼肝脏脂毒性反应研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [48] 刘聪聪, 王树辉, 涂治骁, 等. 中链脂肪酸对脂多糖诱导的断奶仔猪肠黏膜免疫屏障损伤的保护作用[J]. *中国畜牧杂志*, 2018, 54(10):70-74. DOI:10.19556/j.0258-7033.2018-10-070.
- [49] 李春雷. 饲料油脂在储存过程中的变化[J]. *粮油仓储科技通讯*, 2018, 34(5):53-56. DOI:10.3969/j.issn.1674-1943.2018.05.017.
- (收稿日期: 2020-05-04 修回日期: 2020-09-24)

学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的 推荐规范（三）

国际医学期刊编辑委员会

2019年12月更新

III.L.2. 数据共享

ICMJE有关数据共享声明的政策已在一篇述评中详述[见“更新和述评”(www.icmje.org/update.html)]。

(1) 自2018年7月1日开始,向ICMJE成员期刊投稿报告临床试验结果必须包含如下所述的数据共享声明。

(2) 在2019年1月1日或之后开始招募受试者的临床试验必须在试验注册中纳入数据共享计划。关于临床试验注册的ICMJE政策详见www.icmje.org/recommendations/browse/publishing-and-editorial-issues/clinical-trial-registration.html。如果数据共享计划在注册后发生变化,应该反映在所提交和发表稿件的声明中,并在注册记录中更新。

数据共享声明必须说明以下内容:去身份标识的个体受试者数据(包括数据字典)是否将被共享(声明“尚未决定”是不可接受的);具体哪些数据将被共享;是否有额外的相关文件(例如,研究方案、统计分析计划等)可供获取;数据何时可以获取,以及可以开放获取多长时间;共享数据的访问标准(包括共享给谁,用于什么类型的分析,以及通过何种机制共享)。表1举例说明了满足以上要求的数据共享声明。

如果有相关协议条款,使用共享数据进行二次分析的作者必须证明其使用符合接收时的协议条款。他们还必须使用唯一且永久的数据源标识符来引用数据源,这是对数据生成者的充分认可,也使得该数据源所支撑的研究可以被检索。二次分析的作者必须完整地说明其与之前的分析有何不同。那些生成并分享临床试验数据集的人尤其值得称赞。使用他人所收集数据的研究人员应与此前收集数据的人寻求合作。虽然合作并非总是合适、可行或尽如人意,但是他人为了生成数据所做的努力必须得到认可。

IV. 稿件准备与投稿

IV.A. 准备稿件以向医学期刊投稿

IV.A.1. 一般原则

报告原创性研究的论文其正文通常分为“引言”(Introduction)、“方法”(Methods)、“结果”(Results)和“讨论”(Discussion)4个部分,即所谓的“IMRAD”结构。“IMRAD”结构不是一种随意规定的出版格式,而是科学探索过程的反映。在论文的这几个部分中,常常需要给出次级标题以便进一步组织其内容。其他类型的论文如meta分析可能要求采用不同的格式,而病例报告、叙述性综述和述评可采用非结构式的格式。

电子格式便于在电子版文档中增补内容或添加章节,对信息进行分层,建立链接,或摘取论文中的部分内容。只以电子版发表的补充材料应该与稿件的主文档同时提交,且应一起送审。

IV.A.2. 报告指南

不同的研究设计各有其报告指南,如针对随机对照临床试验的CONSORT(www.consort-statement.org),针对观察性研究的STROBE(http://strobe-statement.org/),针对系统综述和meta分析的PRISMA(http://prisma-statement.org/),以及针对诊断准确性研究的STARD(http://www.equator-network.org/reporting-guidelines/stard/)。期刊应尽可能要求作者遵守这些指南,因为这些指南能帮助作者尽可能详细地描述其研究工作,以便编辑、审稿人、读者和其他对医学文献进行评价的研究人员能对该研究进行评估。综述类稿件的作者要尽量描述清楚查找、选择、提取和合并数据所用的方法,其中系统综述的作者必须这样做。EQUATOR工作网(www.equator-network.org/home/)及NLM的《研究报告指南与倡议》(www.nlm.nih.gov/services/research_report_guide.html)是查找报告指南的良好资源。

表 1 满足 ICMJE 要求的数据共享声明的示例*

声明事项	例1	例2	例3	例4
是否可以获取个体受试者数据（含数据字典）？	是	是	是	否
具体哪些数据将被共享？	在试验期间收集的去除身份标识后的全部个体受试者数据	本文报告的结果所依据的去身份标识后的个体受试者数据（文本、图表和附件）	本文报告的结果所依据的去身份标识后的个体受试者数据（文本、图表和附件）	无
哪些其他文件可供获取？	研究方案、统计分析计划、知情同意书、临床研究报告、分析代码	研究方案、统计分析计划、分析代码	研究方案	无
何时可以获取数据（起止日期）？	文章发表后立即可以获取，没有截止时间	文章发表 3 个月后可以开始，满 5 年截止	文章发表 9 个月后可以开始，满 36 个月截止	不适用
共享给谁？	任何想访问该数据的人	提交了方法合理的提案的研究人员	其数据使用提案已得到具有相应资质的独立审查委员会（学术中介）批准的研究人员	不适用
用于什么类型的分析？	任何目的	为实现已批准提案中的目标	用于个体受试者数据的 meta 分析	不适用
通过何种机制可获取数据？	数据可在此（含链接网址）无限期地获取	提案应发给 xxx@yyy。为了获得访问权，数据请求者需要签署数据访问协议。数据可在 5 年内通过第三方网站（含链接网址）获取	提案可在论文发表后的 36 个月内提交。36 个月后可在我们大学的数据库中获取数据，但除了已存储的元数据外，研究者不再提供其他帮助。有关上交提案和访问数据的信息可见于此（含链接网址）	不适用

注：* 这些示例旨在举例说明某些而非全部的数据共享选项。

IV.A.3. 稿件各部分

以下是针对所有研究设计中各部分报告及稿件格式的一般要求。

IV.A.3.a. 文题页

论文及其作者的一般信息放在稿件的文题页，通常包括论文标题、作者信息、各种声明、支持来源和字数统计，有时还包括图与表格的数目。

（1）论文标题。标题是对整篇论文的精炼描述。标题和摘要一起所包含的信息使得论文的电子检索灵敏而又准确。报告指南建议，而且有些期刊要求，标题必须包含研究设计信息（对随机对照临床试验、系统综述和 meta 分析来说尤其重要）。有些期刊要求在文题页或电子投稿系统的单列条目中给

出一个通常不超过 40 个字符（包括字母和空格）的短标题。电子投稿系统可能会限制标题的字数。

（2）作者信息。投稿时应列出每位作者的最高学位，虽然有些期刊并不刊登这些信息。还应列出该项研究工作所归属的具体机构及其部门或组织的名称。大多数电子投稿系统要求作者提供完整的联系信息，包括邮寄地址及电子信箱，但文题页应列出通信作者的电话与传真号码及电子信箱。ICMJE 鼓励列出作者的开放研究者与贡献者身份识别码（Open Researcher and Contributor Identification, ORCID）。

（3）各种声明。例如，作者声明其提交的论文所表达的观点仅是作者本人的观点，而非其所在

机构或资助者的官方立场。

(4) 支持来源。包括基金资助、仪器设备、药物, 以及有助于论文中报告的研究开展或论文撰写的其他支持。

(5) 字数统计。正文字数统计(不包括摘要、致谢、表格、图例和参考文献)使得编辑和审稿人可以评估文章所含信息是否需要占用这样的篇幅, 以及投稿是否符合期刊的格式和字数限制。单独计算摘要的字数也有同样的作用。

(6) 图表数量。有些投稿系统要求在上传图表文件前先填写图表数量。这些数目可供编辑人员和审稿人确认所有的图表是否均包含在稿件中; 由于图表占用篇幅, 编辑人员和审稿人也能据此评估图表提供的信息是否值得占用这样的篇幅, 以及稿件篇幅是否在期刊限制的范围之内。

(7) 关系和活动的公开。每位作者的关系及活动的公开信息应该是稿件的一部分; 各期刊应对信息表述形式和发布位置制定标准。ICMJE制定了统一的关系和活动申报表, 供其成员期刊使用(www.icmje.org/coi_disclosure.pdf)。ICMJE鼓励其他期刊采用这份表格。即使可以提供该表, 编辑可能还是会要求作者在稿件的文题页, 或者在稿件中单列一节“作者声明”, 公开其关系和活动, 以便节省编辑在做决定前向每位作者收集表格的工作量, 也能节省审稿人和读者阅读每位作者的关系及活动表的时间。

IV.A.3.b. 摘要

原创性研究、系统综述和meta分析要求使用结构式摘要。结构式摘要应提供研究背景, 还应阐明研究目的、基本过程(受试者的选择、试验场所、测量及分析方法)、主要发现(如果可能, 给出具体的效应值及其统计学意义和临床意义)和主要结论; 应强调研究或观察的创新性和重要性, 指出研究的主要局限, 不要过度诠释结果。临床试验的摘要应包含CONSORT小组要求的基本项目(www.consort-statement.org/resources/downloads/extensions/consort-extension-for-abstracts-2008pdf/)。基金来源应分开列在摘要之后, 以便突出显示以及MEDLINE编制供检索用的索引。

摘要在许多电子数据库所收录论文的唯一实质性部分, 也是许多读者仅能阅读到的部分, 因此作者应确保摘要能够准确反映论文内容。遗憾的是, 摘要中的信息常常与正文不一致。作者和编辑应该在稿件修订和审稿过程中努力确保两处信息相一致。

结构式摘要的格式要求在期刊之间有所差别, 而且有些期刊采用不止一种格式。作者应遵照拟投期刊规定的格式来撰写论文摘要。

ICMJE建议期刊在摘要的末尾刊出临床试验注册号。ICMJE还建议, 作者在首次使用临床试验名称的首字母缩写来指代他们正在报告的试验, 或者在稿件中提到其他试验时, 只要有临床试验注册号就应该写出来。如果数据已经储存在某个公共知识库, 或者论文是利用该数据进行二次分析, 则作者应该在摘要的末尾写出其唯一、永久的数据集标识码, 以及该公共知识库的名称和编号。

IV.A.3.c. 引言

阐明研究的背景(即问题的实质和意义)。阐述研究或观察的具体目的或目标, 或研究假说。只引用直接相关的参考文献, 不要涉及文中报告的研究数据和结论。

IV.A.3.d. 方法

对“方法”部分的指导原则是清晰描述如何以及为何以某种特定的方法进行研究。“方法”部分应力求足够详细, 从而使其他获得这些资料的人能够重复出结果。一般来说, 该部分应该仅包括制定研究计划或研究方案时可用的信息, 而研究期间所得的全部信息应归在“结果”部分。如果付费给某个机构或与其签约以帮助研究实施(例如资料收集和管理), 则应该在“方法”部分对此予以详细说明。

“方法”部分应该包括一项声明, 说明该研究已得到独立的地方、区域或国家审查机构(例如伦理委员会、机构审查委员会)的批准。如果关于研究实施是否符合《赫尔辛基宣言》的要求受到质疑, 则作者必须解释其所用研究方法的依据, 并证明地方、区域或国家审查机构已明确批准了受到质疑的那部分研究。见II.E节。

IV.A.3.d.i. 受试者的选择与描述

应清晰地描述观察或试验对象(健康人或患者, 包括对照)的选择, 包括纳入和排除标准以及对源人群的说明。由于在研究设计时不一定知道某变量(如年龄、性别或种族等)与研究的相关性, 研究者应尽量在各种类型的研究中纳入代表性人群, 至少提供这些变量及其他相关人口学变量的描述性数据资料。

确保正确使用表示“性别”的两个词: 生物性别sex(报告生物因素时使用)和社会性别gender(报告身份、社会心理或文化因素时使用)。正常

情况下,应当报告受试者的性别[sex 和(或)gender],以及动物或细胞的性别(sex),并描述用于确定性别的方法。如果研究实施时排除了某一人群,例如仅研究一种性别,则作者应解释原因,除非是很显然的情况,如前列腺癌。作者应说明,他们是如何确定种族或民族的,以及如何确定其与研究的相关性。作者应该使用中立、精确和礼貌的语言来描述受试者,避免使用可能具有侮辱性的用词。

IV.A.3.d.ii. 技术信息

具体说明研究的主要及次要目标——通常为主要和次要结局。详细介绍方法、仪器(在括号中给出生产厂家的名称及地址)和操作步骤,使他人能重复出研究结果。如果是已建立的方法,包括统计学方法(见下),应给出参考文献;如果是已经发表但不为人熟知的方法,应给出参考文献及简要描述;如果是新的或经重大改良的方法,则要详细描述,说明采用此方法的理由,并对其局限性做出评价。准确说明所用全部药物和化学试剂的通用名、剂量以及使用途径。正确使用学名和基因名称。

IV.A.3.d.iii. 统计学

详细描述统计学方法,使有相应专业知识的读者能通过访问原始数据来判断该方法是否适合本研究,并核实所报告的结果。若可能,应对结果进行量化,用能恰当反映测量误差或不确定性的指标(如可信区间)来描述结果。避免完全依赖统计学假设检验,如 P 值不能反映有关效应量及估算值精度的重要信息。研究设计和统计学方法的参考文献应尽可能权威著作(标明页码)。定义统计学术语、缩写和大多数符号。具体介绍所使用的统计软件包及其版本。应区分事先设定的分析与探索性分析,包括亚组分析。

IV.A.3.e. 结果

按照逻辑顺序在正文和图表中呈现研究结果,首先给出主要或最重要的研究发现。不要在正文中重复图表中的所有数据,仅需强调或概述最重要的观察结果。凡在“方法”部分提及的主要和次要结局指标都应提供数据。附加或补充材料及技术细节可放在附录中,既能被查阅又不影响正文的连贯性,或只在期刊的电子版中发表。

数值结果不仅要给出计算所得数值(如百分数),还要给出其据以计算的绝对数。仅需列出用于解释文章论点和评估支持性数据的图表。如果表格中的项目很多,可用图代替;图与表的数据不要重复。避免不专业地使用诸如“随机”(表明随机

化策略)、“正常”、“显著”、“相关”和“样本”等统计学专业术语。

根据人口学变量如年龄和性别等分别报告数据,有利于合并不同研究的亚组分析数据,这应该成为常规,除非有不可抗原因不能分层报告数据,但这需要说明。

IV.A.3.f. 讨论

应当以简要总结主要结果作为讨论的开头,进而探讨可能的机制,或对这些结果做出解释。强调研究的新发现和重要方面,并结合全部相关证据对研究结果进行讨论。指出研究的局限性,并探讨研究结果对未来研究以及临床实践或医疗决策的意义。讨论变量(如性别)对研究结果的影响或与研究结果的关联(适当情况下),以及数据的局限性。不要重复具体数据或在稿件的“引言”和“结果”等其他部分已经给出的其他信息。

将结论与研究目的联系起来,但要避免在数据尚不充足时妄下断言和结论。尤其要区分临床意义与统计学意义,不要陈述经济效益和成本,除非稿件中包含相应的经济数据及分析。避免对尚未完成的研究宣称或暗示具有优先权。如理由充分,可提出新的假说,但要明晰地表述假说的内容及提出假说的理由。

IV.A.3.g. 参考文献

IV.A.3.g.i. 总则

作者应该尽可能直接引用原始研究作为参考文献。参考文献不应被作者、编辑或审稿人用于谋取私利。作者应该避免引用来自掠夺性期刊或假期刊的文章。虽然引用综述类论文是引导读者获取一批文献的有效方法,但是综述类论文并不总能准确反映原始研究工作。另一方面,大量引用同一主题的原始研究文献会占用太多篇幅。引用少量关键性原创研究文献往往能起到与大量穷举参考文献相同的作用,尤其是现在可将参考文献添加到已发表文章的电子版上,而且电子文献检索能使读者有效搜索到已发表的文献。

引用已被接受但尚未发表的文章时,应注明“正在印刷”(in press)或“即将出版”(forthcoming);引用已投稿但尚未被录用的稿件中的信息时,应在文中注明“未发表资料”(unpublished observations),并获得信息提供者的书面同意。

发表的文章如果用到数据集,应该引用其唯一、永久的标识码。

避免引用“私人通信”,除非这能提供无法从

公共渠道获取的重要信息。若要引用,应在文中加括号注明通信人的姓名及通信日期。若用于科学论文,还应获得私人通信提供者的书面允许及其准确性的确认。

一些期刊会核对全部参考文献的准确性,但并非所有的期刊都这样做。因此,已发表的论文中有时会存在引用差错。为减少此类差错,应使用电子文献目录源如PubMed或源文献的印刷本核对参考文献。作者应负责检查并确定投稿文章没有引用已撤销的文献,除非引用的是撤稿启事。对于MEDLINE收录期刊上的论文,ICMJE将PubMed视为撤销信息的权威来源。作者可以在PubMed中使用检索词“retracted publication [pt]”,核查被MEDLINE收录期刊撤销的论文,方括号中的pt指文章类型,或直接查看PubMed的撤销文献清单([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=retracted+publication+\[pt\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=retracted+publication+[pt]))。

参考文献应按其在文中首次出现的先后顺序用数字连续编号。正文、表格和图例中的参考文献要以放在括号内的阿拉伯数字标注。

仅在表格或图例中引用的参考文献应根据该表或图在文中首次被提到的顺序,用数字编号。期刊名称应按照MEDLINE使用的格式(www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals)进行缩写。不同期刊对电子文献的引用要求不同,有的要求作者在文中加括号引用,有的则要求在文后参考文献中用数字编号引用。对此,作者应咨询拟投稿期刊。

IV.A.3.g.ii. 类型与格式

参考文献的著录标准应遵循NLM的《ICMJE 学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范:参考文献示例》(www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html),亦详见NLM的《医学文献的引用》第2版(www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/)。随着新媒体的发展,这些资源定期更新,目前针对印刷版文献,未出版资料,音频和视频,CD-ROM、DVD或光盘资料,以及网络在线资料的著录格式指南。

IV.A.3.h. 表格

表格可简要归纳并有效呈现信息,也可提供不同详细度和准确度的信息。表格陈列数据往往比文字叙述更能缩减文章的篇幅。

应根据具体期刊的要求制作表格。为了避免错误,最好将表格直接导入期刊出版软件中。要按表格在文中首次被提到的顺序对其进行数字连续编号,并且每张表均应有表题。表题应简短但有自明性,

所包含的信息应使读者不必查阅正文就能明白表格的内容。确保每张表都在文中提及。

表的每一列都应有简短的表头。作者应将注释文字置于表注中,不要放在表头中。在表注中解释所有非标准缩写的含义;如有需要,可加符号进行注释。不同期刊用的符号可能不同(字母或*、†、‡、§等符号),故应查看具体期刊的作者须知。应写清楚变量是何种统计值,如均数的标准差或标准误。

使用他人已发表或未发表的资料,需完全征得他人同意,并应致谢。

包含补充性数据的附加表格如果因篇幅太长而无法在印刷版上发表,可考虑在期刊的电子版上发表,采用存档服务进行保存,或读者需要时直接由作者提供。文中应加上适当说明,告知读者可以获取这些附加信息,以及从哪里获取。此类表格在投稿时应随文章一起提交,以便同行评议参考。

IV.A.3.i. 图

对于稿件插图的数字图像,应提交适合印刷出版的格式。大多数投稿系统对图像质量有详细的说明,稿件上传后还要对它们进行检查。对于纸质版投稿,图应由专业人员绘制和拍摄,或提交相片质量的数码打印图。

对于放射学影像和其他临床、诊断图像,以及病理标本或显微照片,应提交高分辨率的照片图像文件。用于前后对照的图像,其拍摄光线的强度、方向和颜色应相同。由于在许多科学论文中印迹图被用作主要证据,编辑可要求作者将原始印迹照片放在期刊网站上。

尽管有些期刊会重新加工图片,但多数不会。因此,图中的字母、数字和符号应清晰、前后一致,而且要足够大,以便将图缩小后发表仍清晰可读。图应尽可能具有自明性,因为许多图会直接用于制作幻灯片。图题和详细的注解应置于图例中,不要放在图内。

显微照片图内应有比例尺。显微照片中所用的符号、箭头或字母应与背景对比分明。应解释显微照片中的内部比例尺,并写明染色方法。

按图在文中被提到的先后顺序用数字进行连续编号。若用之前已经发表的图,则必须注明出处,并提交版权所有者的书面使用许可。除非是公有领域中的文件,否则不论原图的作者和出版者是谁,都需要获得其许可。

在稿件中,图例应单独成页,并用与图对应的

阿拉伯数字编号。若用符号、箭头、数字或字母标示图的某部分，应在图例中逐一清楚地标明和解释。

IV.A.3.j. 计量单位

长度、高度、质量和体积的测量值应采用公制单位（米、千克、升）或其十进倍数表述。

温度的单位应该用摄氏度。血压的单位应该用毫米汞柱，除非期刊特别要求使用其他单位。

报告血液学和临床生化指标以及其他一些测量值时，不同期刊使用的单位不同。作者必须参阅具体期刊的“作者须知”，而且应该同时用当地单位和国际单位制（International System of Units, SI）单位报告实验室检测信息。

因为SI单位并未被普遍使用，编辑可能会要求作者附加替代单位或非SI单位。药物浓度既可用SI单位也可用质量单位，但在适当情况下应加括号写出替代单位。

IV.A.3.k. 缩写和符号

应只使用标准缩写，非标准缩写会令读者困惑。避免在稿件的标题中使用缩写。除非缩写是标准计量单位，否则缩写写在文中首次出现时，应先给出全称并在其后的括号内提供缩写。

IV.B. 向期刊投稿

稿件应附投稿信或已填好的期刊投稿表格，它们应该包含以下信息：

（1）向编辑陈述有可能被视为对相同或极其相似的工作进行多余发表的全部投稿和前期报告。所有此类工作均应在新投的文章中特别提及，并作为参考文献引用。投稿时应附此类材料的复制品，以便编辑酌情处理。亦见III.D.2节。

（2）对可能会引起利益冲突的经济或其他关系及活动的陈述。如果稿件本身或作者信息表中没有提及该信息，则必须进行相关申明。亦见II.B节。

（3）有关作者署名的声明。不要求提供全部作者贡献声明的期刊可以要求投稿信包含如下声明（如果该信息未以其他方式提供）：全部作者均已阅读并认可该稿件；全部作者均符合前文所述对作者署名的要求；每个作者都认为稿件如实地反映了研究工作。亦见II.A节。

（4）负责与其他作者联系有关修改和校样最后确认的作者的联系信息。若稿件本身未包含该信息，则应提交相关信息。

投稿信或投稿表中还应告知编辑，是否有人（例如，经所在单位或监管部门）曾经对研究的实施提出过需要特别关注的问题，或是否提出过改进措施。投稿信或投稿表应提供所有可能对编辑有帮助的其他信息，如稿件属于所投期刊的哪一类型稿件或格式。如果稿件曾投给其他期刊，则投稿时附上先前编辑和审稿人的意见以及作者对那些意见的回复，将有助于稿件评审。编辑鼓励作者提交既往这些交流信息，这样做可以加快审稿过程，提高透明度，共享专家意见。

许多期刊提供投稿前的检查清单，帮助作者确保没有遗漏投稿所需的全部资料。对于某些研究类型的报告，有些期刊还要求作者完成报告清单的填写，如随机对照临床试验报告的CONSORT清单。作者应注意期刊是否使用此类清单，如有要求，应在投稿时一并附上。

若重复使用以前发表的资料或图片，报告可识别出患者身份的信息，或致谢他人贡献，投稿时都必须附有许可。

（续完）

后记：本文是国际医学期刊编辑委员会（International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE）发布的2019年版*Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals*的中文译本（简称“ICMJE推荐规范”）第三部分，前两部分分别刊登于本刊2020年第5和第6期。2019年版“ICMJE推荐规范”是由《实验动物与比较医学》编辑部张俊彦、《法医学杂志》编辑部于笑天和《环境与职业医学》编辑部汪源共同翻译，且三刊同时出版。本文的翻译及发表符合ICMJE的规定，英文版本见www.icmje.org；若需引用，请用英文官方版本。感谢*Journal of Integrative Medicine*执行主编周庆辉教授为本次翻译提供的帮助！