

实验动物与比较医学

Shiyan Dongwu Yu Bijiao Yixue



期刊网站

双月刊 1981年9月创刊

第42卷 第1期(总第191期)

2022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

王 健

执行主编

吴宝金

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30.00元, 全年180.00元

中国标准连续出版物号

ISSN 1674-5817

CN 31-1954/Q

版 权 声 明

2022年版权归《实验动物与比较医学》编辑委员会所有。

作者向本刊投稿, 即视为愿意将著作权(包括但不限于信息网络传播权等)授予本刊。不同意者请在投稿时声明。

除非特别说明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会及主办单位的观点。

如有印刷或装订质量问题, 请向本刊编辑部调换。

目 次

主编卷首语

登高望远 不惑前行

王 健, 吴宝金..... 1

青年专家论坛

小鼠模型在消化道黏膜免疫及感染性疾病研究中的应用进展

于士颜..... 3

创刊40周年(续): 各地实验动物科学发展

江西省实验动物科技发展回顾与思考

褚 芳, 罗小泉, 许宝华, 周银平, 万筱荣, 张 洁..... 11

实验动物麻醉专题

常用实验动物全身性麻醉药物的使用

卢 晓, 于灵芝, 周聪颖, 李如颖, 陈文君, 江善祥..... 18

舒泰和陆眠宁复合剂量对巴马小型猪的麻醉效果

薛来恩..... 26

不同剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪对C57BL/6J小鼠的麻醉效果观察

王成稷, 柴 青, 龚 慧, 王 珏, 万颖寒, 顾正页, 暴 旭,
沈如凌..... 31

实验动物与生物医用材料

国产猪小肠黏膜下层脱细胞基质用于兔硬脑膜修复的效果及安全性

孙立旦, 杨飞霞, 张 迪, 陈泽良, 张志慧, 李英俊, 史利军..... 36

实验动物与运动保健医学

运动疲劳状态下大鼠脑皮层单羧酸转运蛋白表达的变化及意义

高 晨, 王 菀, 李玉荣, 裴文娟..... 42

人类疾病动物模型

光化学法与线栓法制作局灶性脑梗死大鼠模型的比较研究

娄惠娟, 张红石, 王宇峰, 贾 萌, 丛德毓..... 48

缺血性脑卒中动物模型的研究进展
董 波, 刘嘉欣, 熊 伟, 唐宋琪, 黄 巍 54

继发性淋巴水肿动物模型的研究进展
杨 杏, 潘兴芳, 赵天易, 赵美丹, 李忠正 62

疼痛抑郁共病动物模型及评价方法研究进展
何仁可, 鲁 程, 陈 薇, 汪萌芽, 徐爱萍 68

支气管哮喘动物模型研究的文献分析与评价
任雪交, 黄 巍, 邱菲菲, 陈晓晓, 肖 湘, 罗文婷, 唐宋琪 74

实验动物设施及管理

高校实验动物设施维护保养采用社会化服务模式的实践与思考
吴 强, 任 倩, 华 晨, 周正宇 81

《实验动物与比较医学》第七届编辑委员会名单 英文目次页后插页

《实验动物与比较医学》稿约 86

《实验动物与比较医学》2022年专题征稿启事 88

《实验动物与比较医学》2022年征订启事 10

《实验动物与比较医学》2022年支持单位 17

《实验动物与比较医学》出版伦理声明 30

2021年版ICMJE推荐规范的更新内容 35

《实验动物与比较医学》有关作者投稿的说明 53

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明 61

《实验动物与比较医学》常用英文缩略词表 67

广告 封二, 前插 1~8, 后插 1~4, 封三, 封底

期刊基本参数: CN 31-1954/Q*1981*b* 大 16*88*zh*P*¥30.00*2000*14*2022-02

(经方正字库授权, 本刊使用字体包括方正雅宋系列、方正兰亭黑 pro global 系列、方正金陵系列、方正Capitolium 系列、方正盛世楷书系列等)

本期责任编辑	吴宝金						
本期审稿专家	陈民利	戴 炯	戴然然	丁玉强	高 诚	李洪涛	卢 晓
	庞万勇	彭长庚	钱帅伟	施 恩	寿旗扬	唐利军	王春霞
	王 健	王玉娥	魏 强	谢建云	吴宝金	徐 平	姚 明
	张 钰	张 周	周光兴	(以姓氏拼音排序)			
本期责任编辑	富群华	张俊彦					
本期责任排版	王伟民	孙东旭(实习)					
本期中英文校对	丁宇菁	陶启辰	朱德才	孙 琛			
本期实习编辑	赵宇朋	周 烁	洪 怡	张亚菲	娄怡欣		

LABORATORY ANIMAL AND COMPARATIVE MEDICINE

Bimonthly

Established in September, 1981

Volume 42, Issue 1

February 25, 2022

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

WANG Jian

Executive Editor-in-Chief

WU Baojin

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 30.00 per issue

CSSN

ISSN 1674-5817

CN 31-1954/Q

Copyright© 2022 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

FU Qunhua, ZHANG Junyan

CONTENTS IN BRIEF

Youth Expert Forum

Advances in the Application of Mouse Models to Study Digestive Mucosal Immunity
and Infectious Diseases

YU Shiyan 3

Development of Laboratory Animal Science Across China

Development of Laboratory Animal Science and Technology in Jiangxi Province:
Review and Reflection

CHU Fang, LUO Xiaoquan, XU Baohua, ZHOU Yinping, WAN Xiaorong,
ZHANG Jie 11

Special Reports: Laboratory Animal Anesthesia

General Anesthetics Commonly Used for Laboratory Animals

LU Xiao, YU Lingzhi, CHOU Sonja Tsung-Ying, LI Ruying, CHEN Wenjun,
JIANG Shanxiang 18

Anesthetic Effects of Zoletil and Xylazine on Bama Mini-pigs

XUE Laien 26

Anesthetic Effects of Different Doses of Zoletil Combined with Serazine Hydrochloride
on C57BL/6J Mice

WANG Chengji, CHAI Qing, GONG Hui, WANG Jue, WAN Yinghan, GU Zhengye,
BAO Xu, SHEN Ruling 31

Laboratory Animal and Biomedical Materials

Effectiveness and Safety of a Domestic Porcine Small Intestinal Submucosa Acellular
Matrix in Rabbit Dura Mater Repairing

SUN Lidai, YANG Feixia, ZHANG Di, CHEN Zeliang, ZHANG Zhihui, LI Yingjun,
SHI Lijun 36

Laboratory Animal and Sports Health Medicine

Expression and Significance of Monocarboxylate Transporters in Cortex of Rats After
Exercise-induced Fatigue

GAO Chen, WANG Wan, LI Yurong, PEI Wenjuan 42

Animal Models of Human Diseases

Comparative Study on the Presentation Effect of Photochemical Method and Wire
Embolization Method for Making Focal Cerebral Infarction Model

LOU Huijuan, ZHANG Hongshi, WANG Yufeng, JIA Meng, CONG Deyu 48

Progress in Animal Models of Ischemic Stroke

DONG Bo, LIU Jiaxin, XIONG Wei, TANG Songqi, HUANG Wei 54

Progress in Animal Models of Secondary Lymphedema

YANG Xing, PAN Xingfang, ZHAO Tianyi, ZHAO Meidan, LI Zhongzheng 62

Advances in Animal Models and Evaluation Methods of Pain and Depression

Comorbidity

HE Renke, LU Cheng, CHEN Wei, WANG Mengya, XU Aiping 68

Progress in Animal Models for Bronchial Asthma

REN Xuejiao, HUANG Wei, QIU Feifei, CHEN Xiaoxiao, XIAO Xiang, LUO Wenting,
TANG Songqi 74

Facilities and Management for Laboratory Animals

Practice and Reflection on Socialized Service of Laboratory Animal Facility

Maintenance in Colleges and Universities

WU Qiang, REN Qian, HUA Chen, ZHOU Zhengyu 81

《实验动物与比较医学》第七届编辑委员会名单

顾问

褚芳(江西省职业病防治研究院)
高诚(上海实验动物研究中心)
顾为望(南方医科大学)
黄韧(广东省实验动物监测所)
肖杭(南京医科大学)
薛智谋(苏州大学)
周光兴(复旦大学)

名誉主编

李劲松(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心)

主编

王健(上海市生物医药技术研究院)

执行主编

吴宝金(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心)

副主编

陈洪岩(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所)
陈学进(上海交通大学)
代解杰(中国医学科学院医学生物学研究所)
丁玉强(复旦大学)
富群华(上海实验动物研究中心)
贺争鸣(中国食品药品检定研究院)
刘恩岐(西安交通大学)
秦川(中国医学科学院医学实验动物研究所)
施标(上海市农业科学院生物技术研究所)
孙强(中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心)
徐平(上海吉辉实验动物饲养有限公司)
燕顺生(新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心)
姚明(上海市肿瘤研究所)
张周(中国科学院上海药物研究所)

编委

艾志福(江西中医药大学)
常艳(上海益诺思生物技术股份有限公司)
常在(清华大学)
陈真(上海市第一康复医院)
陈国强(上海实验动物研究中心)
陈国元(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心)
陈鸿军(中国农业科学院上海兽医研究所)
陈丽(安徽医科大学)
陈民利(浙江中医药大学)
崔东红(上海市精神卫生中心)
崔淑芳(海军军医大学)
戴建军(上海市农业科学院畜牧兽医研究所)
杜小燕(首都医科大学)
韩凌霄(北京维通利华实验动物技术有限公司)
何远清(中国医学科学院苏州系统医学研究院)
和占龙(中国医学科学院医学生物学研究所)
姜宝红(中国科学院上海药物研究所)
赖国旗(重庆医科大学)
冷颖(中国科学院上海药物研究所)
李建军(广东省实验动物监测所)
李善刚(昆明理工大学)
李文德(广东省实验动物监测所)
李珪(上海交通大学)
刘吉宏(上海开纯洁净室技术工程有限公司)
刘少英(四川省林业科学研究院)
刘向云(上海体育学院)
刘忠华(华南农业大学)
卢静(首都医科大学)
卢选成(中国疾病预防控制中心)
陆彩霞(中国医学科学院医学生物学研究所)

陆尔奕(上海交通大学医学院附属仁济医院)
罗小泉(江西中医药大学)
吕龙宝(中国科学院昆明动物研究所)
潘登科(四川省医学科学院·四川省人民医院)
潘学营(上海益诺思生物技术股份有限公司)
庞万勇(赛诺菲全球研发中心)
庞晓斌(河南大学)
师长宏(空军军医大学)
施爱民(南京医科大学)
宋国华(山西医科大学)
宋晓明(杭州师范大学)
孙兆增(谱尼测试集团股份有限公司)
谭毅(重庆医科大学)
唐炜(中国科学院上海药物研究所)
唐利军(湖北省疾病预防控制中心)
唐元家(上海交通大学医学院附属仁济医院)
陶元清(青海省实验动物中心)
王刚(广东省医学实验动物中心)
王萧(广州中医药大学)
王朝霞(上海交通大学)
王德军(浙江中医药大学)
王建飞(安盟得医药科技有限公司)
王可洲(山东第一医科大学)
王胜昌(上海实验动物研究中心)
王玉娥(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所)
魏强(中国医学科学院医学实验动物研究所)
吴德国(中国科学院遗传与发育生物学研究所)
吴建辉(上海市生物医药技术研究院)
吴强(苏州苏净安发环境科技有限公司)
夏长友(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所)
肖君华(东华大学生物科学与技术研究所)
谢建芸(上海实验动物研究中心)
邢凤英(上海交通大学医学院附属第九人民医院)
熊炜(上海海关动植物与食品检验检疫技术中心)
徐艺玫(新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心)
许彤辉(复旦大学)
闫明霞(复旦大学附属肿瘤医院)
杨斐(复旦大学)
杨伟敏(上海睿智化学研究有限公司)
应华忠(浙江省实验动物中心)
袁进(南方医科大学)
张泉(扬州大学)
张笑人(广州医科大学附属肿瘤医院)
张永斌(广州中医药大学)
赵静(江苏集萃药康生物科技股份有限公司)
赵四海(西安交通大学)
赵彦光(上海实验动物研究中心)
郑和平(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院)
周洁(上海实验动物研究中心)
周文江(复旦大学)
周晓辉(上海市公共卫生临床中心)
周正宇(苏州大学)
朱顺星(南通大学)

青年编委

陈仁金(徐州医科大学)
戴然然(上海交通大学医学院附属瑞金医院)
邸亚男(北京大学第三医院)
冯洁(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心)
付书林(武汉轻工大学)
高静(上海交通大学)

高巍(吉林大学)
郝智慧(中国农业大学)
李舸(广东省实验动物监测所)
李会萍(广东省实验动物监测所)
李静(复旦大学附属华山医院)
李娜(中国科学院上海药物研究所)
李顺(上海市公共卫生临床中心)
李晓燕(中国疾病预防控制中心)
李长龙(首都医科大学)
林金杏(上海实验动物研究中心)
刘颖(北京中医药大学)
刘月环(杭州医学院<浙江省医学科学院>)
刘真(中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心)
卢晓(迪哲医药有限公司)
潘鸿捷(上海市生物医药技术研究院)
彭长庚(同济大学)
权福实(吉林大学)
沈如凌(上海实验动物研究中心)
史仍飞(上海体育学院)
宋宁宁(复旦大学)
孙颖(上海市肿瘤研究所)
汤静(复旦大学附属妇产科医院)
王春霞(上海交通大学医学院附属儿童医院)
王红平(四川省药品检验研究院)
王荣(西安医学院)
王宇(上海市食品药品检验研究院)
魏盛(山东中医药大学实验中心)
吴剑(复旦大学附属中山医院)
吴薇(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心)
谢淑武(上海市生物医药技术研究院)
徐汪节(上海交通大学)
杨利峰(中国农业大学)
杨玉琴(上海市第一人民医院)
叶茂青(复旦大学附属华东医院)
于士颜(上海交通大学医学院附属第九人民医院)
于艳(中国康复科学所)
于志锋(上海交通大学医学院附属第九人民医院)
张磊(同济大学医学院)
张意锋(北京科技大学)
赵莹(上海实验动物研究中心)

特邀审稿专家

陈振文(首都医科大学)
傅江南(暨南大学)
金帆(浙江大学医学院附属妇产科医院)
饶军华(广东省科学院动物研究所)
邵奇鸣(西安国联质量检测技术股份有限公司)
邵义祥(南通大学)
孙德明(国家卫生健康委科学技术研究所)
屠伟峰(南京医科大学附属苏州科技城医院)
王纯耀(郑州大学)
王靖宇(大连医科大学)
王勇(中国科学院亚热带农业生态研究所)
吴永杰(上海市高血压研究所)
谢家骏(上海中医药大学)
徐彭(江西中医药大学)
薛整风(扬州大学)
岳秉飞(中国食品药品检定研究院)
曾林(军事科学院军事医学科学研究所)

(`常务编委。均以姓氏拼音排序)

登高望远 不惑前行

1981年9月,上海市畜牧兽医学学会实验动物科学专业组创办了内部发行的《上海畜牧兽医通讯:实验动物科学专辑》,这是我国实验动物科学领域的第一本专业学术期刊。1984年1月,该刊更名为《上海实验动物科学》,并于1987年9月经上海市新闻出版局批准公开发行;2005年5月,经国家新闻出版总署批准,进一步更名为《实验动物与比较医学》。创刊40年来,本刊始终致力于中国实验动物科学以及与实验动物相关的比较医学领域的科技成果交流、技术推广和人才培养,为我国生命科学诸多领域,尤其是医学实验动物科学的发展做出了积极贡献。在此,我们谨代表编委会和编辑部,诚挚感谢全国实验动物学界及国内外相关领域广大作者、读者及审稿专家对本刊的关心和支持!

《实验动物与比较医学》现由上海市实验动物学会和上海实验动物研究中心共同主办,期刊发展得到了双方历届领导的高度重视和大力支持。历届主编邓肿先生(第一、二届)、刘瑞三教授(第三届)和高诚研究员(第四~六届)更是为本刊的发展殚精竭虑,付出了极大的心血,取得了令人瞩目的成绩。目前,本刊是中国科技核心期刊,内容涉及实验动物资源开发与利用、实验动物标准化、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术、实验动物医学、比较医学、人类疾病动物模型建立及其相关的基础与应用研究等。近年来,在各位编委的热情指导和大力推动,以及编辑部全体人员的精心策划和共同努力下,本刊的学术水平和影响力呈现出持续提升的良好态势。2021年度期刊计量评价指标分析报告显示,本刊综合即年指标增幅超109%,复合影响因子增幅为68%。

随着2022年1月本刊编委会换届工作的顺利完成,接力棒传递到了第七届编委会手中,我们深感使命光荣、责任重大。本届编委会由170位热心于我国实验动物事业和本刊发展的专家组成,将坚持以习近平新时代中国特色社会主义思想为指导,以提高刊物质量、引领行业发展、服务国家科技创新为宗旨,充分发挥全体编委的专业优势,瞄准专业热点和学科前沿,组织优质稿件及相关专题报道;加强编辑队伍的专业化建设,规范稿件处理流程,严把学术诚信和编校质量关,提高期刊的学术服务能力;优化期刊的文献推介方式和信息交流途径,拓展数字化传播渠道,包括积极申请国际数据库,扩大本刊的国内外影响力;以期刊为核心搭建高水平的学术交流平台,进一步凝聚作者、读者、审稿人和编辑人员的力量,助力优秀科技人才及团队成长,使本刊成为我国实验动物及比较医学从业者共同的学术殿堂和精神家园。

过去的40年,是我国实验动物行业起步与高速发展的40年。《实验动物与比较医学》顺应了时代发展,始终坚持“百花齐放,百家争鸣”的办刊方针,为实验动物科学发展做出了重要贡献。登高望远,不惑前行!我国实验动物科学即将迈入跨越式发展的新阶段,《实验动物与比较医学》也将在新征程上责无旁贷、铭记初心、继往开来,为推动我国实验动物和比较医学的发展不懈努力!

王健(主编), 吴宝金(执行主编)

(2022年1月30日, 写于上海)



王 健, 博士, 研究员, 复旦大学药理学专业博士生导师。现任上海市生物医药技术研究院(原上海市计划生育科学研究所)副院长、国家卫健委计划生育药具重点实验室副主任、妇幼健康研究会常务理事兼安全避孕专业委员会主任委员。主要从事妊娠建立和维持过程调控机制,以及复发性流产等病理妊娠发生机制及其干预技术的研究。先后主持10余项国家新药创制重大专项课题、国家973项目子课题和国家自然科学基金面上项目;已发表100余篇论文,其中SCI论文60余篇;获得国家发明专利19项、实用新型专利3项、国际专利2项;参与编写出版专业和科普著作4部;获得省部级科技成果二等奖3项、三等奖2项。



吴宝金, 博士, 研究员, 硕士研究生导师。现任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主任,兼任上海市实验动物学会副理事长及秘书长,中国实验动物学会标准化委员会委员,中国科学院实验动物工作委员会委员。研究方向为人类疾病动物模型、分子遗传学、实验动物屏障设施管理。主持完成国家自然科学基金3项,教育部留学回国人员基金和杭州市重点实验室建设等课题10余项,参加国家“十五”重点攻关计划“国家遗传工程小鼠资源库的建立”;发表学术论文40余篇,其中SCI论文11篇;参编多部专业书籍,包括副主编《中国大百科全书》兽医卷实验动物分册(2021)、《实验动物解剖学》(2020)等。

本刊收录情况:

中国科技论文与引文数据库(CSTPCD, 即中国科技核心期刊目录)

Chemical Abstracts(美国化学文摘)

中国核心期刊数据库

中国科技期刊数据库

中国生物医学文献数据库

中国期刊全文数据库

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中国期刊网、万方医学网、中国知网,等



于士颜, 医学博士, 研究员, 博士生导师, 现任上海交通大学医学院附属第九人民医院上海精准医学研究院黏膜屏障与宿主微生物互作课题组组长。2011—2019年受美国克罗恩病及肠炎基金、新泽西州博士后基金等资助, 利用遗传工程小鼠模型, 研究消化道黏膜屏障发育、修复及其相关疾病, 在小肠上皮细胞极化与再生、肠上皮细胞与肠道微生物互作、肠道黏膜免疫等方面取得一些发现, 相关成果发表于 *Immunity* (2020)、*Cell Stem Cell* (2018)、*EMBO J* (2014) 等期刊。2019年回国后加盟上海精准医学研究院, 入选2021年上海市海外高层次人才项目。目前课题组主要研究方向为利用遗传工程小鼠模型与高通量组学技术开展消化道黏膜屏障生理与病理生理等研究。

小鼠模型在消化道黏膜免疫及感染性疾病研究中的应用进展

于士颜^{1,2}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院上海精准医学研究院, 上海 200125; 2. 上海交通大学医学院附属第九人民医院肿瘤科, 上海 200125)

[摘要] 机体的消化道黏膜定殖着巨量的共生微生物, 这些微生物通过与宿主相互作用, 影响宿主的健康与疾病。近年来, 随着高通量测序与培养组学等技术的发展, 大量与健康或疾病相关但以前未充分研究的微生物被鉴定出来。研究这些微生物对宿主黏膜免疫生理与病理生理的影响及相关分子机制, 对防治相关疾病具有重要意义。小鼠模型是系统性研究宿主与微生物相互作用的重要平台。本文介绍近年来利用小鼠模型在消化道黏膜免疫及感染性疾病研究中的部分重要进展与挑战, 并展望综合利用遗传工程与菌群移植或环境暴露等优化小鼠模型的研究前景, 以期促进与微生物紧密相关的健康与疾病的转化研究。

[关键词] 小鼠模型; 菌群; 宿主微生物互作; 黏膜免疫; 感染性疾病

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0003-08

Advances in the Application of Mouse Models to Study Digestive Mucosal Immunity and Infectious Diseases

YU Shiyuan^{1,2}

(1. Shanghai Institute of Precision Medicine, 9th Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University Medical School, Shanghai 200125, China; 2. Oncology Unit, the 9th Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University Medical School, Shanghai 200125, China)

Correspondence to: YU Shiyuan, E-mail: yulab@sjtu.edu.cn

[ABSTRACT] The host digestive tract comprises trillions of commensal microbes, collectively called microbiota. These microbes interact with a various host cell types and have a significant impact on health and disease. High-throughput sequencing technologies have accelerated the identification of numerous poorly studied microbes associated with health and disease. Genetic and humanized mouse models with and without environmental exposure were established to study the roles of these microbes in human physiologies and pathologies. Important findings related to the microbiota, mucosal immunity, and infectious diseases in mouse models are summarized. Furthermore, challenges and opportunities in leveraging genetic approaches and environmental exposure to optimize mouse models are discussed.

[Key words] Mouse model; Microbiota; Host-microbial interactions; Mucosal immunity; Infectious disease

[基金项目] 上海交通大学医学院附属第九人民医院人才启动项目(XK2019007); 上海高水平地方高校创新团队项目(SHSMU-ZLCX20211700)

[作者简介] 于士颜(1981—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 消化道黏膜屏障发育、修复及其相关疾病。E-mail: yulab@sjtu.edu.cn

微生物在地球生命圈内无处不在,在微观尺度上形成动态演化的微生态系统,它能适应并改造自然环境,同时参与宏观生态系统的生化分子循环、能量传递,甚至遗传信息交换。致病性微生物可以在物种内甚至物种间播散,造成传染性疾病;同时,高致死性传染性疾病加重了物种进化筛选压力,甚至影响物种存亡^[1]。除自养微生物外,许多微生物需要寄居于宿主提供的特定空间内,并与宿主相互作用(简称互作)以适应环境演化。人体黏膜表面定殖着上百兆级微生物,与人体形成稳定的共生关系^[2]。这种共生关系对宿主健康与疾病等生理病理活动产生重要影响^[3]。一方面,共生微生物形成的稳定生态有助于抑制其他致病病原体的侵入,同时通过其代谢次生产物与其固有模式组分共同刺激宿主免疫系统发育、成熟,从而调节人体各组织器官的生理功能及免疫稳态^[4-5]。另一方面,西方化饮食与不良生活习惯诱导菌群生态紊乱,可造成携带易感基因的宿主免疫系统异常活化,进而诱发免疫相关性疾病。另外,有些饮食经肠道菌群处理后可产生有毒性的代谢产物,毒性物质可促进代谢相关性疾病甚至肿瘤的发生^[6-7]。不少病原微生物亦可利用共生菌群创造的生态环境,促进该病原体定殖并破坏宿主屏障,从而造成感染发生^[8-11]。

以前由于微生物培养条件与手段有限,大部分微生物的功能研究均未得到充分开展。近年来借助高通量测序技术与生物信息学高级算法,特定微生物与宿主正常免疫生理以及相关疾病的相关性研究取得了不少重要进展^[12]。而研究宿主与微生物互作对宿主生理与病理生理的影响,探寻因果关系,常需要借助模式生物。根据微生物定殖的自然宿主谱,可以从果蝇、线虫等低等生物到小鼠、豚鼠等啮齿类动物,以及灵长类动物等来选择模式生物^[13]。本文将介绍近年来利用小鼠模型在消化道黏膜免疫及感染性疾病研究中的部分重要进展与挑战,并对未来如何整合小鼠资源与环境暴露等要素提出观点,便于更好地认识人与微生物互作对人类健康与疾病的影响及其机制。

1 小鼠模型在黏膜免疫与感染性疾病研究中的应用进展

影响人类健康与疾病的某些微生物可以跨物种定殖,而有些微生物,尤其是病原微生物,仅能感染人类等有限种属,这为选择合适的模式动物带来了挑战。相对其他动物模型,小鼠作为模式动物的基础研究相对更加充分,很多宿主与微生物互作研究的突破性发

现都源于对小鼠资源的合理应用,如小鼠模型在推动肠道菌群与黏膜免疫研究中发挥了关键性作用。即便许多微生物在自然状况下不依赖小鼠作为宿主,但是借助基因工程与人源化策略,小鼠依然可以作为重要的在体研究平台,可用于模拟宿主与微生物互作的部分环节,从而促进相关疾病机制的研究。

1.1 环境暴露对小鼠免疫系统生理与病理的影响

微生物暴露对小鼠免疫生理发育成熟发挥重要作用^[14]。无菌小鼠的免疫系统极不成熟,但移植正常肠道菌群后可诱导外周免疫系统成熟,表现为外周免疫细胞类型更加丰富且数量增大。无特定病原体(specific pathogen free, SPF)小鼠的免疫系统类似于人类幼年阶段,由于能免于常见的致病性微生物暴露,其活化的免疫细胞与记忆性淋巴细胞数量相对较少^[15]。而自然界或宠物店获得的小鼠(dirty/wild mice,即脏鼠/野生鼠)免疫活动更接近于成年人,表现为组织内免疫反应活跃,记忆性免疫细胞显著增多,抗体种类与丰度明显增加^[16]。将实验室小鼠接触脏鼠或者后者污染的垫料,甚至将实验室小鼠胚胎转移到野外捕获的假孕雌鼠体内,均可诱导实验室小鼠产生类似脏鼠的免疫表型^[16-17]。同样,将SPF级小鼠序贯性感染疱疹病毒、流感病毒与肠道钩虫后,发现其外周血基因表达谱与成人外周血基因表达谱十分相似^[15]。新近有研究将不同基因型SPF级实验室小鼠置于自然环境下重新野化(rewilding),发现环境暴露是不同个体间血液免疫细胞群变异的首要诱因,而基因型不同更容易造成个体间细胞因子产生差异^[18]。将野外小鼠肠道菌群移植给实验室小鼠,可以减少炎症反应强度,降低实验室小鼠经流感病毒攻击后的死亡率,降低由诱变剂氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)与致炎剂葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)处理诱发结直肠癌的肿瘤负荷^[19]。更重要的是,研究发现利用脏鼠作为临床前疫苗评估模型,相对于SPF级小鼠更接近人群对疫苗的反应性,提示前者可能是更好的药效评估策略^[15, 20]。另外,不同环境暴露还可能影响微生物与宿主免疫系统互作的病理表现。例如,有研究发现鼠诺如病毒感染无菌小鼠可诱导I型干扰素产生,促进黏膜免疫成熟^[21];而感染SPF小鼠则诱导产生肿瘤坏死因子等,在炎症肠病易感小鼠模型上出现组织病理性改变^[22]。牙龈普林单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)是牙周病主要致病菌,感染SPF级小鼠可模拟人牙周病临床表型,而感染无菌小鼠却未能诱导牙周病发生^[23]。因此,利用小鼠模型研

究人类生理与疾病时需要考虑环境变量对小鼠免疫表型的影响,并在此基础上合理控制环境暴露以期更好地模拟人体免疫反应,为揭示临床相关疾病机制并探讨防治策略提供高转化价值的研究数据。

1.2 小鼠模型在肠道菌群与黏膜免疫及相关疾病研究中的应用

现代小鼠与人类社会的寄生关系可追溯至约15 000年前的人类农耕文明时期^[24]。上万年来,小鼠饮食结构与人类食谱高度重叠,而且暴露在相似的自然环境,造成其肠黏膜内环境与人类相似,因此小鼠模型成为研究人类肠道菌群生理与病理功能的较为理想的模式动物。研究发现人类肠道菌群内上千种不同菌种经体外培养后,仅能测出约60%的种属,而转移至无菌鼠肠道内定殖则可检出约90%左右^[25],显示小鼠模型在研究大量不可培养微生物构成的复杂肠道微生态中的巨大优势。

利用小鼠模型研究发现,菌群定殖并与宿主黏膜屏障组成细胞互作对黏膜屏障功能至关重要。小鼠出生后,在其口腔、肠道中微生物序贯定殖,可诱导黏膜上皮细胞表达更多的细胞连接蛋白,从而促进形成更强的细胞间连接,同时上调细胞因子、趋化因子等以招募免疫细胞归巢,参与抵抗微生物侵入,逐步建立屏障功能^[26-27]。黏膜上皮细胞在黏膜免疫屏障中承担着关键角色^[28]。上皮细胞一方面可以分泌抗菌肽、黏液以及上皮间紧密连接等区隔腔内微生物,另一方面与固有层免疫细胞交流以调控免疫方向与活跃度。遗传工程小鼠模型即基因修饰小鼠模型(genetic modified mouse models)在鉴定不同上皮细胞功能的研究中体现出重要价值。Hansson 博士研究小组通过RedMUC2-98trTg转基因小鼠模型,在体实时示踪黏蛋白释放,可鉴定出能响应微生物组分并迅速释放黏液蛋白的哨兵杯状细胞^[29]。Locksley 博士研究小组通过对白细胞介素25(interleukin 25, IL-25)原位敲入红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP)基因获得Flare25小鼠模型,发现组成性表达IL-25的簇细胞(Tuft细胞)是宿主感知胃肠微生物及其代谢产物并触发小肠2型免疫反应的启动细胞^[30-31]。利用潘氏细胞溶菌酶敲除小鼠模型,研究发现潘氏细胞溶菌酶是肠腔溶菌酶的主要来源,溶菌酶可以调节肠道菌群组成,通过核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide oligomerization domain, NOD)样信号通路影响肠道黏膜的免疫状态。溶菌酶缺陷小鼠肠道菌群中Gram阳性菌的比例显著上升,尤其是嗜黏液菌显著扩增,并激

活肠道2型黏膜反应,诱导杯状细胞增生,从而分泌更多黏液蛋白,以补偿溶菌酶缺陷造成的屏障功能下降^[32]。Reg III是另一类肠上皮细胞分泌的抗菌多肽,敲除该基因可造成肠上皮细胞与肠腔微生物物理区隔受损,诱导大量的IgA⁺细胞和 γ -干扰素阳性(interferon γ -positive, IFN γ ⁺) Th1细胞^[33]。

在黏膜特异性免疫研究中,利用小鼠模型已鉴定了大量可诱导特定免疫类型的微生物或微生物组合,深刻揭示了微生物在诱导外周免疫分化成熟中的关键作用。通过比较不同来源小鼠表型与肠道菌群组成差异,研究发现分节丝状菌(segmented filamentous bacteria, SFB)锚定肠上皮细胞可诱生血清淀粉样蛋白A1-3(serum amyloid A protein 1-3, SAA1-3),进而诱导ROR γ ⁺T细胞表达IL-17^[34-37]。另外,过表达人防御素 α 5(defensin α 5)可以显著抑制肠道菌群丰度,从而降低肠黏膜IL-17的表达^[38]。进一步通过比较大鼠来源与小鼠来源SFB分别对大鼠与小鼠肠道Th17细胞的诱导能力,发现微生物锚定在上皮细胞表面即可诱导SAA1-3表达。同样能够黏附肠上皮细胞的致病病原体如*Citrobacter rodentium*、EHEC O157:H7等均可诱导Th17功能。另有研究报告,利用相同策略,肠道共生菌*Lactobacillus reuteri*可通过色氨酸代谢衍生物激活AhR信号通路,诱生CD8 α ⁺上皮细胞内淋巴细胞^[39];并且证实小鼠肠道共生寄生虫*Tritrichomonas muris*与肠道菌群均可通过肠上皮细胞激活2型肠黏膜免疫^[40-41]。利用抗生素/氯仿处理小鼠肠道菌群并监测直肠黏膜固有层中Treg细胞的变化,鉴定并分离出*Clostridia* IV与XIV亚群,这些亚群具有诱导直肠Treg细胞的功能;进一步借助代谢组学分析发现,这些亚群合成的短链脂肪酸可诱导直肠Treg细胞分化^[42-44]。新近有研究将人肠道菌群定殖于无菌小鼠,并从具有氨苄抗性的细菌亚群中筛选到11株菌组合,这些肠道菌种组合可诱生IFN γ ⁺CD8⁺T细胞,从而增强宿主清除细胞内感染的能力,发挥抗肿瘤免疫作用^[45]。因此,上述发现为探索利用相关菌株调控免疫功能,从而防治相关疾病,提供了新思路。

临床研究发现许多疾病与菌群生态失调紧密相关^[46]。炎性肠病是典型的由肠道菌群生态失调与易感基因携带宿主之间发生病理性互作所导致的疾病,目前研究认为其发病原因是工业化食品加工与添加剂使用急速改变了肠道菌群生态,造成携带易感基因的宿主黏膜免疫系统病理性识别肠道菌群,诱发肠道屏障功能严重受损,并启动恶性循环^[47]。通过大样本全基

基因组关联分析 (GWAS), 目前已鉴定出超过 300 个炎性肠病易感基因^[48-51]。通过敲除这些基因, 或采用定点突变技术引入炎性肠病易感的突变, 构建炎性肠病小鼠模型, 可以在功能学水平上验证这些基因在肠黏膜免疫与炎性肠病发生过程中的作用。*NOD2* 是首个被鉴定的炎性肠病易感基因。研究发现, *NOD2* 基因敲除小鼠肠上皮细胞中杯状细胞数量减少, 细胞内黏液蛋白分泌囊泡也减少, $\text{IFN}\gamma^+$ 上皮内淋巴细胞水平升高, 同时肠道菌群生态失调, 多样性受损, 诱导病理性损伤条件致病菌如 *Bacteroides vulgatus* 的丰度上调; 而单独定植 *B. vulgatus* 于甲硝唑预处理后的 *NOD2* 基因缺陷小鼠, 可以再次诱导出相似的病理表型^[52]。将炎性肠病患者的肠道菌群移植给无菌小鼠, 可诱导更多的 Th2 与 Th17 细胞, 而健康对照肠道菌群诱导更多的 $\text{ROR}\gamma^+$ Treg 细胞; 而且在肠炎模型中, 前者比后者更容易诱导严重的组织损伤^[53], 这揭示了生态失调的肠道菌群在炎性肠病中发挥病理生理作用。

1.3 小鼠模型在感染性疾病研究中的应用

对于人鼠共患病原微生物, 小鼠模型可以直接用于感染模型构建。例如, 鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 感染可造成人腹泻、发热等症状, 小鼠感染亦出现相似表型^[54]。而可造成人类伤寒热的伤寒沙门菌 (*Salmonella enterica serovars typhi*, *S. typhi*) 并不能感染野生型小鼠。但是, 有研究发现 Toll 样受体 Tlr11 缺陷小鼠模型 (Tlr11 敲除小鼠模拟人类 Tlr11 基因缺陷) 对 *S. typhi* 易感, 并可出现人类伤寒病表型。利用灭活 *S. typhi* 疫苗免疫 Tlr11 缺陷小鼠, 可以帮助小鼠产生特异性免疫, 抵抗 *S. typhi* 再感染^[54]。同样, 利用 I 型干扰素受体 (interferon- α receptor 1, IFNAR1) 缺陷小鼠也能较好地模拟寨卡病毒 (Zika virus, ZIKV) 感染造成的病理性损伤^[55]。利用 I 型与 II 型干扰素受体联合缺陷的 AG129 小鼠可以模拟同属黄热病属的登革热病毒感染造成的临床表型^[56]。因此, 对人兽共患病原微生物研究, 可以首先尝试野生型或者天然免疫反应缺陷型小鼠, 然后通过检测病理指标, 评估是否满足模拟感染需求。

有些病原微生物侵入宿主时依赖人特异性感染受体, 小鼠由于外显子进化与人的同源基因在蛋白序列上存在变异, 尤其是结合位点突变严重影响小鼠与病原微生物的亲合力。这种情况下, 需要借助基因工程技术或人源化策略改造小鼠。比如, 诱发败血症脑膜炎等临床表现的李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*), 经粪口途径感染时依赖人肠上皮 E-Cadherin, 其中第 16

位脯氨酸至关重要。小鼠由于外显子进化, 第 16 位脯氨酸替换为谷氨酸, 从而失去了结合内化素 (internalin) 的能力。为此, 有研究利用大鼠肠上皮特异性 FABP 启动子驱动人 E-Cadherin 表达质粒, 构建转基因小鼠模型, 诱导小鼠肠上皮细胞过表达人 E-Cadherin, 从而使得该小鼠对李斯特菌产生易感性^[57]。同样, 为研究冠状病毒 SARS-CoV、COVID-19 感染, 构建了 K19-hACE2 与 mAce2-hACE2 转基因小鼠, 让冠状病毒感染受体即人源 ACE2 相对特异性表达于上皮细胞或鼠内源性 mAce2 表达细胞中^[58-59]。这些小鼠模型一定程度上可以模拟冠状病毒感染, 病理学检测肺等组织均可检出病毒蛋白表达、免疫炎性细胞浸润、组织结构破坏等病理表型^[58-59]。

有些病原微生物的宿主嗜好性体现在: 即便提供感染受体、改变小鼠基础免疫状态, 依然不能形成有效感染, 推测其生活史多个环节可能依赖人源细胞或人特异性基因的参与。对于这类病原微生物感染在体研究, 人源化是相对适当的策略。早期利用人源外周血单核细胞、富含 CD34⁺ 造血干细胞的骨髓或胎肝人源化小鼠, 可促进对人免疫缺陷病毒、登革热病毒、疟原虫等感染的研究^[60-62]。对于靶向非血源性细胞的病原微生物, 研究这类病原体与宿主互作可以将靶器官组织团块或含有靶细胞的类器官与人造血干细胞联合移植给免疫缺陷小鼠。例如肝炎病毒感染, 需要同时移植人源肝细胞^[63]。新近有研究报告, 在胸腺、胎肝联合移植的基础上, 将人源肺组织包埋于小鼠皮下, 可支持 MERS-CoV、RSV、HCMV 等呼吸道病毒感染, 并诱导出一定水平的特异性细胞免疫及体液免疫^[64]。

2 小鼠模型在宿主与微生物互作研究中的挑战

人体与微生物互作对人类健康与疾病产生重要影响, 但是其机制研究却受限于伦理与技术条件, 无法完整地在人体内进行相关研究, 因此大量实验动物模型包括各种品系的小鼠被开发出来。由于在 800 万年前小鼠与人已经分开进化, 这两个物种对环境的刺激反应必然带有物种特异性^[65-66]。因此, 源自小鼠模型的研究发现是否具有转化应用价值, 依然需要借助人源组织的多组学、大样本研究来验证。另外, 有些人类基因的同源基因在啮齿类动物基因组中已经失活, 对于这类基因参与的宿主微生物互作研究, 不建议采用小鼠模型 (甚至包括过表达该人类基因的转基因小鼠) 作为研究平台。

持续暴露于多样化组成的微生态群有助于小鼠建立类似成人的免疫反应。但是环境暴露很难精确控制微生物的组成与比例,也很难做到实时跟踪小鼠是否曾发生大量未知微生物感染,因此实验的可重复性经常受到挑战。如何标准化环境暴露因素依然有待探索,可能措施包括在多个时间点采集高通量数据,这无疑会明显增加实验成本。另外,小鼠模型接受人肠道菌群转移定植,依然不能完全重现所有人类肠道微生物。因此,这些无法转移的微生物造成的表型变化很难在小鼠模型上看到。最后,不少肠道菌群诱导的宿主表型仍然需要在易感基因携带者体内才能重现。仅接受患者肠道菌群建立的野生型悉生小鼠(gnotobiotic mice)很可能难以重现类似表型,需要建立携带该易感基因的无菌鼠,这无疑再次增加了研究的时间成本。

在人源化小鼠构建中,由于组织相容性抗原不同,移植抗宿主免疫时常发生。另外,人源细胞或组织移植小鼠体内常由于鼠源细胞因子或表面配体受体,不能满足某些人源细胞增殖、分化、归巢等^[67]。因此,经过筛选存活的免疫细胞与免疫反应将出现偏倚,从而减弱实验结果的转化价值。此外,免疫联合缺陷小鼠由于缺乏LTi(lymphoid tissue inducer)细胞,造成二级淋巴结发育不良,人源免疫细胞很难有效利用这些淋巴组织以完成抗原特异性T或B细胞分化、增殖和成熟过程^[68]。为克服上述问题,需要修饰或沉默小鼠组织相容性抗原,让特定细胞类型表达人源分子,利用上皮特异性启动子驱动胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)过表达以刺激淋巴结发育^[69]等,这些也无疑增加了人源化的复杂度与成本。

3 总结与展望

3.1 利用无菌小鼠与悉生小鼠模型推进宿主微生物互动与宿主表型之间的因果关系研究

随着高通量测序技术不断成熟且成本下降,微生物菌群相关研究已经成为一个热点,大量的生理病理表型与菌群的相关性被一一建立。前期大部分研究集中在描述菌群组成,验证其与表型的相关性,但是在更精细的菌株水平上依据科赫法则(Koch postulates)鉴定造成表型的微生物或最小微生物组合将是下一阶段菌群研究的重要方向^[70]。由于从未接触任何微生物,无菌小鼠可以最大限度地排除背景微生物干扰,因此它是这类研究较理想的实验平台。采集表型相关菌群,大比例稀释后直接定植于无菌小鼠,或者经过

体外选择性培养获得单克隆菌株,然后再定植于无菌小鼠,从而建立悉生小鼠模型。通过比较定植前后小鼠表型的变化,可以揭示关键微生物与特定表型之间的因果关系。

3.2 丰富构建遗传工程小鼠模型与人源化小鼠模型的技术手段

构建携带类似人类易感基因突变的遗传工程小鼠,是在体研究相关疾病的重要手段。近年来,利用成簇规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)-CRISPR相关蛋白-(CRISPR-associated protein 9, Cas9)技术显著提高了包括同源重组在内的基因编辑发生概率,缩短了遗传工程小鼠模型的建构周期^[71]。基于CRISPR技术的单碱基修饰、引物编辑(prime editing)等为更精准的基因编辑提供了新手段^[72-74]。人源化是改造小鼠作为人与病原微生物互作研究平台的另一种重要策略。随着类器官3D培养技术的发展,多种人体组织块可以被分离、重悬在富含相应生长因子的培养体系内持续培养^[75]。另外,利用诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS)持续定向诱导分化,亦可生长出组织类器官^[75]。将这些人类器官组织植入骨髓或胎肝、胸腺联合移植的小鼠皮下或相应脏器包膜下,可为靶向这些拟人类器官的微生物提供互作微环境。

3.3 合理利用基因组学与环境暴露建立更接近人类免疫反应的小鼠模型

构建更贴近人类对微生物反应性的小鼠模型,无疑是未来遗传工程小鼠模型研究的一个重要方向。随着功能基因组学的发展,小鼠与人类基因表达调控的规律将会被逐渐揭示。综合利用这些新知识,并借助人合成生物学、系统生物学等手段,将有助于构建更加接近人体精准调控基因活动的遗传工程小鼠模型,并减少对基因组拓扑结构、非靶基因表达等的干扰。利用更精准的基因编辑工具,更高效地原位转换鼠源编码序列为人源编码序列,从而让小鼠获得相同的人类疾病基因易感性或病原微生物嗜好性。另外,随着多组学技术、大数据科学的发展,研究宿主与微生物互作的手段将会更加丰富。将这些多维数据与动物模型在体研究紧密结合,无疑会推动宿主与微生物互作相关研究,使人们更全面深入地认识微生物对人类健康与疾病的影响。

[利益声明] 作者声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] FISHER M C, HENK D A, BRIGGS C J, et al. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health[J]. *Nature*, 2012, 484(7393):186-194. DOI:10.1038/nature10947.
- [2] GROUSSIN M, MAZEL F, ALM E J. Co-evolution and co-speciation of host-gut bacteria systems[J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(1):12-22. DOI:10.1016/j.chom.2020.06.013.
- [3] CHO I, BLASER M J. The human microbiome: at the interface of health and disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(4):260-270. DOI:10.1038/nrg3182.
- [4] CLEMENTE J C, URSELL L K, PARFREY L W, et al. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view [J]. *Cell*, 2012, 148(6):1258-1270. DOI:10.1016/j.cell.2012.01.035.
- [5] SOMMER F, BÄCKHED F. The gut microbiota: Masters of host development and physiology[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(4):227-238. DOI:10.1038/nrmicro2974.
- [6] FALONY G, VIEIRA-SILVA S, RAES J. Microbiology meets big data: the case of gut microbiota-derived trimethylamine[J]. *Annu Rev Microbiol*, 2015, 69: 305-321. DOI: 10.1146/annurev-micro-091014-104422.
- [7] DZUTSEV A, BADGER J H, PEREZ-CHANONA E, et al. Microbes and cancer[J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35:199-228. DOI:10.1146/annurev-immunol-051116-052133.
- [8] FERREYRA J A, WU K J, HRYCKOWIAN A J, et al. Gut microbiota-produced succinate promotes *C. difficile* infection after antibiotic treatment or motility disturbance[J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 16(6): 770-777. DOI: 10.1016/j.chom.2014.11.003.
- [9] NG K M, FERREYRA J A, HIGGINBOTTOM S K, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens[J]. *Nature*, 2013, 502(7469): 96-99. DOI:10.1038/nature12503.
- [10] JONES M K, WATANABE M, ZHU S, et al. Enteric bacteria promote human and mouse Norovirus infection of B cells[J]. *Science*, 2014, 346(6210): 755-759. DOI: 10.1126/science.1257147.
- [11] BALDRIDGE M T, NICE T J, MCCUNE B T, et al. Commensal microbes and interferon- λ determine persistence of enteric murine norovirus infection[J]. *Science*, 2015, 347(6219): 266-269. DOI:10.1126/science.1258025.
- [12] KUCZYNSKI J, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Experimental and analytical tools for studying the human microbiome[J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 13(1):47-58. DOI:10.1038/nrg3129.
- [13] KOSTIC A D, HOWITT M R, GARRETT W S. Exploring host-microbiota interactions in animal models and humans[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(7):701-718. DOI:10.1101/gad.212522.112.
- [14] MASOPUST D, SIVULA C P, JAMESON S C. Of mice, dirty mice, and men: using mice to understand human immunology[J]. *J Immunol*, 2017, 199(2):383-388. DOI:10.4049/jimmunol.1700453.
- [15] REESE T A, BI K, KAMBAL A, et al. Sequential infection with common pathogens promotes human-like immune gene expression and altered vaccine response[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(5):713-719. DOI:10.1016/j.chom.2016.04.003.
- [16] BEURA L K, HAMILTON S E, BI K, et al. Normalizing the environment recapitulates adult human immune traits in laboratory mice[J]. *Nature*, 2016, 532(7600): 512-516. DOI: 10.1038/nature17655.
- [17] ROSSHART S P, HERZ J, VASSALLO B G, et al. Laboratory mice born to wild mice have natural microbiota and model human immune responses[J]. *Science*, 2019, 365(6452): eaaw4361. DOI:10.1126/science.aaw4361.
- [18] LIN J D, DEVLIN J C, YEUNG F, et al. Rewilding Nod2 and Atg16l1 mutant mice uncovers genetic and environmental contributions to microbial responses and immune cell composition[J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(5): 830-840. e4. DOI:10.1016/j.chom.2020.03.001.
- [19] ROSSHART S P, VASSALLO B G, ANGELETTI D, et al. Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance[J]. *Cell*, 2017, 171(5): 1015-1028. e13. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.016.
- [20] FIEGE J K, BLOCK K E, PIERSON M J, et al. Mice with diverse microbial exposure histories as a model for preclinical vaccine testing[J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(12):1815-1827. e6. DOI:10.1016/j.chom.2021.10.001.
- [21] KERNBAUER E, DING Y, CADWELL K. An enteric virus can replace the beneficial function of commensal bacteria[J]. *Nature*, 2014, 516(7529):94-98. DOI:10.1038/nature13960.
- [22] CADWELL K, PATEL K K, MALONEY N S, et al. Virus-plus-susceptibility gene interaction determines Crohn's disease gene Atg16L1 phenotypes in intestine[J]. *Cell*, 2010, 141(7): 1135-1145. DOI:10.1016/j.cell.2010.05.009.
- [23] HAJISHENGALLIS G, LIANG S, PAYNE M A, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement[J]. *Cell Host Microbe*, 2011, 10(5): 497-506. DOI: 10.1016/j.chom.2011.10.006.
- [24] WEISSBROD L, MARSHALL F B, VALLA F R, et al. Origins of house mice in ecological niches created by settled hunter-gatherers in the Levant 15, 000 y ago[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(16):4099-4104. DOI:10.1073/pnas.1619137114.
- [25] GOODMAN A L, KALLSTROM G, FAITH J J, et al. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(15): 6252-6257. DOI: 10.1073/pnas.1102938108.
- [26] KOREN N, ZUBEIDAT K, SABA Y, et al. Maturation of the neonatal oral mucosa involves unique epithelium-microbiota interactions[J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(2):197-209. e5. DOI: 10.1016/j.chom.2020.12.006.
- [27] EARLE K A, BILLINGS G, SIGAL M, et al. Quantitative imaging of gut microbiota spatial organization[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(4):478-488. DOI:10.1016/j.chom.2015.09.002.
- [28] LARSEN S B, COWLEY C J, FUCHS E. Epithelial cells: liaisons of immunity[J]. *Curr Opin Immunol*, 2020, 62: 45-53. DOI: 10.1016/j.coi.2019.11.004.
- [29] BIRCHENOUGH G M H, NYSTRÖM E E L, JOHANSSON M E V, et al. A sentinel goblet cell guards the colonic crypt by triggering Nlrp6-dependent Muc2 secretion[J]. *Science*, 2016, 352(6293):1535-1542. DOI:10.1126/science.aaf7419.
- [30] SCHNEIDER C, O'LEARY C E, VON MOLTKE J, et al. A metabolite-triggered tuft cell-ILC2 circuit drives small intestinal remodeling[J]. *Cell*, 2018, 174(2): 271-284. e14. DOI:

- 10.1016/j.cell.2018.05.014.
- [31] VON MOLTKE J, JI M, LIANG H E, et al. Tuft-cell-derived IL-25 regulates an intestinal ILC2-epithelial response circuit[J]. *Nature*, 2016, 529(7585):221-225. DOI:10.1038/nature16161.
 - [32] YU S Y, BALASUBRAMANIAN I, LAUBITZ D, et al. Paneth cell-derived lysozyme defines the composition of mucolytic microbiota and the inflammatory tone of the intestine[J]. *Immunity*, 2020, 53(2): 398-416. e8. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.07.010.
 - [33] VAISHNAVA S, YAMAMOTO M, SEVERSON K M, et al. The antibacterial lectin RegIIIgamma promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine[J]. *Science*, 2011, 334(6053): 255-258. DOI: 10.1126/science.1209791.
 - [34] IVANOV I I, ATARASHI K, MANEL N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria[J]. *Cell*, 2009, 139(3):485-498. DOI:10.1016/j.cell.2009.09.033.
 - [35] IVANOV I I, MCKENZIE B S, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor RORgamma directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells[J]. *Cell*, 2006, 126(6):1121-1133. DOI:10.1016/j.cell.2006.07.035.
 - [36] IVANOV I I, DE LLANOS FRUTOS R, MANEL N, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine[J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 4(4):337-349. DOI:10.1016/j.chom.2008.09.009.
 - [37] ATARASHI K, TANOUE T, ANDO M, et al. Th17 cell induction by adhesion of microbes to intestinal epithelial cells[J]. *Cell*, 2015, 163(2):367-380. DOI:10.1016/j.cell.2015.08.058.
 - [38] SALZMAN N H, HUNG K, HARIBHAI D, et al. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(1):76-83. DOI:10.1038/ni.1825.
 - [39] CERVANTES-BARRAGAN L, CHAI J N, TIANERO M D, et al. *Lactobacillus reuteri* induces gut intraepithelial CD4⁺ CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ T cells[J]. *Science*, 2017, 357(6353): 806-810. DOI: 10.1126/science.aah5825.
 - [40] HOWITT M R, LAVOIE S, MICHAUD M, et al. Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut[J]. *Science*, 2016, 351(6279): 1329-1333. DOI: 10.1126/science.aaf1648.
 - [41] LEI W W, REN W W, OHMOTO M, et al. Activation of intestinal tuft cell-expressed *Sucnr1* triggers type 2 immunity in the mouse small intestine[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(21):5552-5557. DOI:10.1073/pnas.1720758115.
 - [42] ATARASHI K, TANOUE T, OSHIMA K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota[J]. *Nature*, 2013, 500(7461): 232-236. DOI: 10.1038/nature12331.
 - [43] FURUSAWA Y, OBATA Y, FUKUDA S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells[J]. *Nature*, 2013, 504(7480):446-450. DOI:10.1038/nature12721.
 - [44] ATARASHI K, TANOUE T, SHIMA T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species[J]. *Science*, 2011, 331(6015):337-341. DOI:10.1126/science.1198469.
 - [45] TANOUE T, MORITA S, PLICHTA D R, et al. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity[J]. *Nature*, 2019, 565(7741): 600-605. DOI: 10.1038/s41586-019-0878-z.
 - [46] LEVY M, KOLODZIEJCZYK A A, THAISS C A, et al. Dysbiosis and the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(4):219-232. DOI:10.1038/nri.2017.7.
 - [47] KAPLAN G G, NG S C. Understanding and preventing the global increase of inflammatory bowel disease[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(2): 313-321. e2. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.10.020.
 - [48] KHOR B, GARDET A, XAVIER R J. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2011, 474(7351):307-317. DOI:10.1038/nature10209.
 - [49] JOSTINS L, RIPKE S, WEERSMA R K, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2012, 491(7422): 119-124. DOI:10.1038/nature11582.
 - [50] DE LANGE K M, MOUTSIANAS L, LEE J C, et al. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(2):256-261. DOI:10.1038/ng.3760.
 - [51] HUANG H L, FANG M, JOSTINS L, et al. Fine-mapping inflammatory bowel disease loci to single-variant resolution [J]. *Nature*, 2017, 547(7662):173-178. DOI:10.1038/nature22969.
 - [52] RAMANAN D, TANG M S, BOWCUTT R, et al. Bacterial sensor Nod2 prevents inflammation of the small intestine by restricting the expansion of the commensal *Bacteroides vulgatus*[J]. *Immunity*, 2014, 41(2): 311-324. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.015.
 - [53] BRITTON G J, CONTIJOCH E J, MOGNO I, et al. Microbiotas from humans with inflammatory bowel disease alter the balance of gut Th17 and ROR γ ^t regulatory T cells and exacerbate colitis in mice[J]. *Immunity*, 2019, 50(1):212-224.e4. DOI:10.1016/j.immuni.2018.12.015.
 - [54] MATHUR R, OH H, ZHANG D K, et al. A mouse model of *Salmonella typhi* infection[J]. *Cell*, 2012, 151(3):590-602. DOI: 10.1016/j.cell.2012.08.042.
 - [55] LAZEAR H M, GOVERO J, SMITH A M, et al. A mouse model of zika virus pathogenesis[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(5): 720-730. DOI:10.1016/j.chom.2016.03.010.
 - [56] SHRESTA S, SHARAR K L, PRIGOZHIN D M, et al. Murine model for dengue virus-induced lethal disease with increased vascular permeability[J]. *J Virol*, 2006, 80(20):10208-10217. DOI:10.1128/JVI.00062-06.
 - [57] LECUIT M, VANDORMAEL-POURNIN S, LEFORT J, et al. A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier[J]. *Science*, 2001, 292(5522): 1722-1725. DOI:10.1126/science.1059852.
 - [58] MCCRAY B A, SKORDALAKES E, TAYLOR J P. Disease mutations in Rab7 result in unregulated nucleotide exchange and inappropriate activation[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(6): 1033-1047. DOI:10.1093/hmg/ddp567.
 - [59] BAO L L, DENG W, HUANG B Y, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice[J]. *Nature*, 2020, 583(7818):830-833. DOI:10.1038/s41586-020-2312-y.
 - [60] CHOUDHARY S K, ARCHIN N M, CHEEMA M, et al. Latent HIV-1 infection of resting CD4⁺ T cells in the humanized Rag2^{-/-} γ c^{-/-} mouse[J]. *J Virol*, 2012, 86(1): 114-120. DOI: 10.1128/jvi.05590-11.

- [61] MOTA J, RICO-HESSE R. Humanized mice show clinical signs of dengue fever according to infecting virus genotype[J]. J Virol, 2009, 83(17):8638-8645. DOI:10.1128/JVI.00581-09.
- [62] JIMÉNEZ-DÍAZ M B, MULET T, VIERA S, et al. Improved murine model of malaria using plasmodium falciparum competent strains and non-myelodepleted NOD-scid IL2R gamma null mice engrafted with human erythrocytes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(10):4533-4536. DOI: 10.1128/AAC.00519-09.
- [63] WASHBURN M L, BILITY M T, ZHANG L G, et al. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease[J]. Gastroenterology, 2011, 140(4): 1334-1344. DOI:10.1053/j.gastro.2011.01.001.
- [64] WAHL A, DE C, FERNANDEZ M A, et al. Precision mouse models with expanded tropism for human pathogens[J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(10): 1163-1173. DOI: 10.1038/s41587-019-0225-9.
- [65] SUN J, LI N, OH K S, et al. Comprehensive RNAi-based screening of human and mouse TLR pathways identifies species-specific preferences in signaling protein use[J]. Sci Signal, 2016, 9(409): ra3. DOI:10.1126/scisignal.aab2191.
- [66] YUE F, CHENG Y, BRESCHI A, et al. A comparative encyclopedia of DNA elements in the mouse genome[J]. Nature, 2014, 515(7527):355-364. DOI:10.1038/nature13992.
- [67] CHEN Q F, KHOURY M, CHEN J Z. Expression of human cytokines dramatically improves reconstitution of specific human-blood lineage cells in humanized mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(51): 21783-21788. DOI: 10.1073/pnas.0912274106.
- [68] CHAPPAZ S, FINKE D. The IL-7 signaling pathway regulates lymph node development independent of peripheral lymphocytes[J]. J Immunol, 2010, 184(7): 3562-3569. DOI: 10.4049/jimmunol.0901647.
- [69] LI Y, MASSE-RANSON G, GARCIA Z, et al. A human immune system mouse model with robust lymph node development [J]. Nat Methods, 2018, 15(8):623-630. DOI:10.1038/s41592-018-0071-6.
- [70] FISCHBACH M A. Microbiome: focus on causation and mechanism[J]. Cell, 2018, 174(4): 785-790. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.038.
- [71] MIURA H, QUADROS R M, GURUMURTHY C B, et al. Easi-CRISPR for creating knock-in and conditional knockout mouse models using long ssDNA donors[J]. Nat Protoc, 2018, 13(1):195-215. DOI:10.1038/nprot.2017.153.
- [72] ANZALONE A V, RANDOLPH P B, DAVIS J R, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA[J]. Nature, 2019, 576(7785):149-157. DOI:10.1038/s41586-019-1711-4.
- [73] KOMOR A C, KIM Y B, PACKER M S, et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage[J]. Nature, 2016, 533(7603):420-424. DOI:10.1038/nature17946.
- [74] GAUDELLI N M, KOMOR A C, REES H A, et al. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage[J]. Nature, 2017, 551(7681): 464-471. DOI: 10.1038/nature24644.
- [75] SCHUTGENS F, CLEVERS H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases[J]. Annu Rev Pathol, 2020, 15: 211-234. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032611.
- (收稿日期: 2021-11-15 修回日期: 2022-01-26)
(本文编辑: 张俊彦)

《实验动物与比较医学》2022年征订启事

《实验动物与比较医学》(CN 31-1954/Q, ISSN 1674-5817)由上海科学院主管,上海市实验动物学会和上海实验动物研究中心联合主办,是我国实验动物科学及比较医学领域创刊最早的一本专业学术期刊。本刊目前是中国科技论文统计源期刊(即中国科技核心期刊),并被美国“Chemical Abstracts”、中国核心期刊数据库、中国科技期刊数据库、中国生物医学文献数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网和万方医学网等收录,2020年入选中国医师协会发布的中国医药卫生“核心期刊”目录。

本刊兼顾理论与实践、普及与提高,刊登实验动物科学和比较医学领域的研究及应用新成果、新进展、新信息。期刊内容主要涉及人类疾病动物模型、实验动物资源开发与利用、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术与方法、实验动物医学、比较医学方法研究,以及以实验动物为基础的生物医药各领域基础与应用研究。设置栏目包括专家论坛、研究论著、综述、经验交流、实践与探索、技术与平台、政策与法规、标准与指南、人物、简报、动态与书讯等。读者对象为生物学、医学、药学、动物学和农学等各领域从事实验动物生产、繁育、检测和管理,以及应用实验动物进行比较医学研究的广大科技工作者、教育工作者和医学工作者。欢迎订阅!

本刊为双月刊,大16开,铜版纸,彩色印刷;全年出版6期,每期定价30元/本,全年定价180元/套。读者可在各地邮局订阅,邮发代号为4-789;也可以联系本刊编辑部购买,联系电话:021-50793657。E-mail:bjb50793657@163.com。编辑部地址:上海市浦东新区金科路3577号(邮编201203)。期刊官网地址: <http://www.slarc.org.cn/dwyx>。

《实验动物与比较医学》编辑部



褚芳, 女, 研究员, 从事医疗、科研工作50年, 是江西省实验动物学科创始人之一, 现任江西省实验动物学会顾问、全国实验动物标准化技术委员会委员。先后承担国家和省级重大科研项目20余项, 其中通过成果鉴定并获奖9项, 获得省科技进步二等奖1项、三等奖2项、卫生部乙级成果奖1项, 以及首届健康杯奖和国际中医药杰出成果奖。发表论文70余篇, 其中主笔撰写发表论文40余篇, 国际会议交流论文4篇, 主编并出版《实验动物与动物实验基础知识问答》一书, 参与全国实验动物标准的研究、讨论与制定。荣获江西省优秀科技工作者、江西省“三八红旗手”、江西省“巾帼英雄”等称号, 并被江西省实验动物学会授予“终身成就奖”。

江西省实验动物科技发展回顾与思考

褚芳¹, 罗小泉^{1,2}, 许宝华¹, 周银平¹, 万筱荣¹, 张洁^{1,2}

(1. 江西省实验动物学会, 南昌 330006; 2. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 实验动物是生命科学研究的重要基础和支撑条件, 是衡量一个国家和地区生物医药科技研究水平的重要标志。本文系统回顾了江西省实验动物科技发展的基本情况, 以及江西省实验动物学会对实验动物科技发展的作用; 并对以往存在的问题进行分析, 指出江西省实验动物研究底子薄、对实验动物科技的战略定位认识不足、缺乏稳定的经费支撑等问题, 一定程度上致使生物医药基础研究及技术创新的能力略显不足; 同时在分析现状的基础上, 提出了“十四五”期间江西省实验动物科技发展的对策和建议。

[关键词] 江西省; 实验动物; 科技; 发展; 思考

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0011-07

Development of Laboratory Animal Science and Technology in Jiangxi Province: Review and Reflection

CHU Fang¹, LUO Xiaoquan^{1,2}, XU Baohua¹, ZHOU Yinping¹, WAN Xiaorong¹, ZHANG Jie^{1,2}

(1. Jiangxi Association for Laboratory Animal Science, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Correspondence to: CHU Fang, E-mail: chufang0791@163.com

[ABSTRACT] Laboratory animals constitute a fundamental part of life sciences and help assess the research level of biomedical science in a country or region. This paper systematically reviews the basic conditions and social role of laboratory animal science development in Jiangxi Province. It also makes a superficial analysis of the existing problems, pointing out that our province lacks basic research and technological innovation owing to its weak foundation, deficiency of understanding of the strategic positioning of the laboratory animal discipline, and lack of stable financial support. Based on the analysis of the current situation, this paper proposes countermeasures and suggestions for the development of the laboratory animal discipline in our province during the 14th Five-Year Plan period.

[Key words] Jiangxi Province; Laboratory animal; Science and Technology; Development; Reflection

21 世纪, 人类已步入生命科学的新时代, 生物技术已成为各国竞争的焦点。实验动物科学是一门以生命科学为主体的综合性、相对独立的新兴学科, 它的发展是现代科学技术发展的必然要求, 已经与人们的

日常生活、国民经济建设及国际交流与合作密不可分、息息相关。实验动物科技是生命科学的重要基础和支撑条件, 其发展水平是衡量一个国家和地区生物医药科技研究水平的重要标志。实验动物是推动科学进步

与创新的重要自然资源之一,也是国家科技基础条件平台建设的重要组成部分^[1]。实验动物科技发展伴随着现代科学技术的发展,同时又可促进现代科学技术向更新的层次迈进。在国家改革开放政策指引下,江西省实验动物科技已走过三十多年的历程,随着我国社会经济发展的时代步伐,从无到有,从小到大,不断孕育、创建、发展起来,是一个新兴而富有生命活力的科技领域。江西省实验动物科技发展是在省科技厅的领导下,在省卫健委、省食品药品监督管理局、省科协的大力支持下,通过全省实验动物与动物实验科技工作者的共同努力而推动。近些年来,江西省实验动物科技发展做了许多有益的工作,发挥了科技的引领作用,取得了可喜成绩和长足进步^[2-3]。

1 江西省实验动物科技发展回顾

1950年代至1980年代初,江西省的医药院校、研究所、生物制品机构等就使用动物做实验。当时使用瓦罐饲养大鼠小鼠,用蔬菜、碎米喂养大鼠小鼠;用青菜、红萝卜、麦麸喂养兔;用碎米饭喂养犬。实验环境条件很差,科研人员对实验动物质量几乎毫无认知,也没有具体要求。在有些研究项目实施过程中,小鼠出现痘样病毒仍用于实验。由于实验动物质量不受控制,所得数据往往离散度很大,于是就加大动物的用量,希望能获得好的实验结果,但结果并非尽如人意。直到1988年国家科技部颁发《实验动物管理条例》后,江西省的实验动物科技工作才算真正起步。

1.1 实验动物地方性法规和管理制度的颁布

为配合国家科技部颁发的《实验动物管理条例》的实施,1996年江西省实验动物管理委员会成立。江西省科技厅、卫生厅和医药管理局联合颁发了《江西省实验动物管理暂行办法》,使江西省实验动物科技工作真正步入制度化、法治化管理轨道。江西省实验动物管理委员会至今已进行了4次换届。为贯彻国科发财字〔2001〕545号《实验动物许可证管理办法(试行)》,制定了《江西省实验动物许可证管理实施细则》《江西省实验动物许可证审批程序》《实验动物许可证(生产、使用、饲料)验收细则》等文件。另外,还下发了“关于在科研管理工作中贯彻《实验动物许可证管理办法(试)》的通知”,强调凡申报科研课题和鉴定科研成果,应当把应用合格实验动物作为基本条件;凡申报科技计划涉及实验动物或动物实验的科研课题立项,除符合主管部门规定的立项条件之外,还必须同时出具“实验动物许可证”和课题参加人员

所持的“实验动物与动物实验科技工作者岗位资格证书”,并且科研课题的内容应与许可证的许可范围一致;凡涉及实验动物或动物实验的已立项科研课题,主管部门在进行课题中期检查或验收、鉴定时,应严格考察该课题是否来自于“许可证”拥有机构。通过一系列措施,不断深化管理内涵,促进实验动物质量的提升和使用水平的提高,这为实验动物许可证管理奠定了理论基础,提供了政策依据,并为促进江西省实验动物科技管理规范化、制度化、法治化起到了积极作用。

为了做好实验动物管理工作,省科技厅两次组织管理人员和专家专门前往北京、黑龙江、宁夏、云南、广东等地进行考察,与兄弟省市同仁进行交流和學習,并起草了“江西省实验动物管理条例”,两次报送省人大,争取《实验动物管理条例》进入省人大立法程序,为江西省实验动物立法做好了前期工作。

1.2 实验动物地方标准的制定

为了确保实验动物质量,1995年江西省起草了6项地方标准,即《实验大小鼠饲养环境条件及设施》、《实验大小鼠全价营养饲料》^[4]、《近交系大小鼠遗传检测规范》、《实验大小鼠病原菌检测等级》、《远交群大小鼠保种繁育要求》、《实验大小鼠病理学检查》(DB36/T202~207—1995),并于1995年7月3日通过省标准局主持的标准审定会的审定。省标准局于1995年8月15日发布三六六号通告,指令9月15日起正式在江西省境内实施以上标准。直至国家标准出台后,2014年起以上标准才被废止,改为按照国家标准执行。

1.3 实验动物质量检测站的建立

根据国家科技部和国家技术监督局联合发布的《实验动物质量管理办法》以及国家科技部《省级实验动物质量检测机构技术审查准则》、《省级实验动物质量检测机构技术审查细则》文件要求,江西省科技厅拨款50万元,在江西省职业病防治研究院医学实验动物中心的基础上筹建“江西省实验动物质量检测站”,并于2004年8月通过国家实验动物质量检测管理机构认可,以优良的考试/考核成绩取得省级实验动物质量检测机构资格。江西省实验动物质量检测站正式成立后,每年都会对全省实验动物相关机构的实验动物环境设施条件与质量进行一次年检或抽检,使江西省实验动物管理工作上了一个新的台阶。

1.4 实验动物生产基地的建立

为了落实国家实验动物质量标准化建设要求,解

决江西省使用实验动物困难, 2004年通过重大招标的形式, 在江西中医药大学建立了全省第一个实验大小鼠生产基地; 随后赣南医学院亦取得了大小鼠生产许可证; 在赣州市科技局、赣州市畜牧良种研究所等机构的支持下, 在赣州市畜牧良种研究所建立了实验兔生产基地; 另外支持私营企业, 建立了南昌市龙平兔生产基地。随后, 江西省实验动物产量和质量均有所提高。据统计, 2018年江西省共生产普通级实验兔 7 156 只, SPF 级大鼠 14 000 余只, 小鼠 66 000 余只; 2020年生产 SPF 级大鼠 15 000 余只, 小鼠 62 000 余只, 在相当程度上满足了教学和科研的需要。

1.5 实验动物资源共享

为进一步推进全省科技发展规划的顺利实施, 加强江西省科技创新体系和科技基础条件建设, 实施资源共享, 确保有实验动物设施条件的机构可以做动物实验, 没有条件做动物实验的科技人员也能做动物实验, 2008年江西省科技厅会同相关部门研究决定: 依托江西省职业病防治研究院、江西省药物研究所、江西省食品药品检验所、江西省疾病预防控制中心等4个机构组建江西省动物实验公共服务平台, 实现实验动物实验室对外开放、资源共享, 为江西省及周边省市及地区生命科学、生物医药、化妆品、保健食品等相关研究及产业技术开发提供配套的实验动物与动物实验技术服务, 对提升江西省相关行业的技术研发能力和自主创新能力发挥了重要作用。

1.6 实验动物设施建设

江西省实验动物设施从无到有, 从小到大, 从低档次到符合国家标准, 进步明显。2019年, 江西省实验动物管理委员会办公室受省科技厅的委托对全省实验动物科技情况进行了一次调查, 从收到的40家机构的调查数据表中分析发现, 有35家机构申请并获取了实验动物许可证, 占87.5%。实验动物生产设施总面积为5 120 m², 其中普通环境2 420 m², 屏障环境2 700 m²。动物实验设施总面积为22 743.72 m², 其中普通环境13 358.29 m², 屏障环境9 122.43 m², 隔离器实验室面积为263 m²。

1.7 实验动物生产和使用许可证制度的实行

为了做好实验动物许可证的发放工作, 2003年制定并发布了《江西省实验动物许可证管理实施细则》、《江西省实验动物许可证审批程序》和《江西省实验动物生产、使用许可证验收规则》。现有35个机构通过了实验动物环境设施验收, 并获得了“实验动物使用许可证”, 其中4个机构同时获得了“实验动物生产许可证”。

1.8 科学研究获得多项成果

30多年来, 江西省始终把科学研究作为科技发展的动力源泉, 广大科技人员的科研积极性空前高涨, 各项研究成果不断涌现, 有的新成果在国内领先, 有的达到国际先进水平, 有的填补省内空白。例如: 1986年发现了世界罕见的大鼠鼠痘并开展了一系列研究^[5,8], 大鼠鼠痘已列入实验动物病毒性疾病目录^[9]与相关标准; 实验小鼠质量控制规范的建立和应用研究(1996年), 以及脑积水动物模型的研究(2006年)^[10-11], 获江西省科技进步三等奖; 外源性性早熟动物模型的建立与应用(1991年)^[12]获江西省科技进步二等奖; 应用育成杂交技术建立实验兔新品种的研究(1997年)通过省科技厅组织的成果鉴定, 成功培育了南昌兔; 1990年建成官山实验猴场; 2008年先后建立了人卵巢癌裸小鼠实体瘤动物模型^[13]和人卵巢癌肝脾转移动物模型^[14]等等。这些都是我省实验动物科技前进的足迹, 通过科研实践锻炼并培养了人才, 从而奠定了本省科技发展的基础。

1.9 实验动物科室越级升格

1995年6月南昌大学医学院(原江西医学院)由后勤分管的动物房(股级)越级升格为南昌大学医学院实验动物科学部(现称南昌大学实验动物科学中心, 正处级), 是我省首个升格正处级的实验动物机构, 承担该校(院)的实验动物教学、科研、生产、服务等工作。同时开设了“实验动物学”、“宠物鉴赏与驯养”两门课; 建立江西省实验动物网络信息平台, 申请获得8项国家基金资助课题; 2019年7月获批江西省实验动物重点实验室, 进一步推动了江西省实验动物科技发展。后来, 江西中医药大学的实验动物中心也升格为正处级, 充分显示了江西省各院校对实验动物科技工作的高度重视。

1.10 首个GLP实验室建立

2008年成立了江西省药物研究所安全评价中心, 且在上级主管部门的大力支持下, 在原有投资的基础上, 新增投资800多万元, 实验区及辅助设施建筑面积达1 500 m², 动物实验室包括屏障环境和普通环境动物实验设施, 其中SPF级动物实验区420 m², 普通级动物实验区200 m², 办公区150 m², 各类功能实验室及辅助设施面积为700 m²。并且配有在线监控、智能控制、备用电源、废物储存、动物专用电梯、污物电梯等设施。通过3年多的试运行, 于2012年5月接受了国家食品药品监督管理总局药品认证管理中心GLP认证现场检查、考核。并于同年8月通过了GLP认证

(认证批件编号: GLP12007045), 2015年12月和2019年10月分别通过了两次定期检查。这是江西省实验动物科技发展的又一个突破。

1.11 首个SPF鸡生产群建立

1987年江西省科技厅贴息30万元贷款,在江西生物药品制造厂建起净化面积为124 m²的SPF级净化鸡房,养殖种鸡600羽,1988年5月开始产蛋,经检测达到国际规定的SPF级标准^[15],属全国较早的SPF鸡生产群之一。除自用外,还向北京、上海提供SPF鸡蛋。在此基础上,1990年与法国赛诺菲公司(投资990万美元)联合开办江西赛诺菲动物保健品有限公司。后来由于维持费用太高,而被迫关停。

2 学会对实验动物科技发展发挥的作用

2.1 举办各类学术会议

江西省实验动物学会自1988年底成立以来,共承办4次全国学术研讨会、3次华东地区学术交流会和26次全省性学术交流会,征集本省论文827篇,交流论文689篇,专题报告36个。另外,派员出席国际研讨会12人次;参加全国性会议128人次,交流论文87篇;组织出席华东地区学术交流会15次,征集本省论文341篇,参会代表226人次,交流论文248篇;赴中南学术交流会暨全国部分省市研讨会4次,参会代表26人次,交流论文21篇。

1992年9月由江西省实验动物学会领衔主办,在江西庐山召开了全国20省(市)实验动物病毒学监测研讨会。该类专题研讨会在我国尚属首次,会议得到了时任中国实验动物学会理事长、中国医学科学院实验动物研究所所长卢耀增教授和我国著名实验动物病毒学家吴小嫻教授的全力支持,取得了圆满成功。

由北京、湖北、广东、安徽和江西等五省(市)实验动物学会联合发起,江西省实验动物学会承办的“2000井冈山实验动物科学知识继续教育学术研讨会”于2000年8月3日至6日在江西省井冈山市召开,来自全国14个省市的实验动物科技工作者和有关领导94人参加此次研讨会,以“实验动物科学知识教育”为主题研讨会,在全国尚属首次。

值得一提的是,在1989年上海国际实验动物科学研讨会期间,众多华东地区代表如上海实验动物科学研究会主任委员邓翀、副主任委员王楠田,江苏省实验动物学会理事长李厚达、副理事长宋长年,山东省实验动物中心主任白毅,浙江省实验动物中心主任聂

金荣,福建省医学实验动物中心主任黄秀兰,江西省实验动物学会副理事长兼秘书长罗厚良、副秘书长褚芳开了一个碰头会,提议华东地区应联合举办华东地区实验动物学术交流会,大家一致同意并决定首次会议在庐山召开,由江西省实验动物学会主办;以后每两年召开一次,华东七省市轮流主办。至今已经开了15次华东地区学术交流会,江西省已承办了3次。

华东地区首届实验动物科学学术交流会于1990年10月22日至25日在江西庐山召开,来自华东七省市99名专家学者出席,交流论文131篇。上海市著名实验动物专家邓翀教授做了题为《当前我国实验动物科学发展的几个问题》的专题报告。华东地区第8次实验动物科学学术交流会于2004年10月12日至16日在江西省南昌市召开,来自华东地区及北京、广东、吉林等10个省市从事实验动物的科技工作者、厂方代表共219人参加了会议,交流论文172篇;并特邀美国宾夕法尼亚大学兽医博士Mark Haskins教授和美籍华人专家王平医师做了有关科技前沿的专题报告。华东地区第15次实验动物科学学术交流会于2018年9月18日至21日再次在江西省南昌市召开,来自华东地区以及兄弟省份的实验动物专家、科技工作者、企业代表等400余人参会,会议收集论文272篇;经华东地区第十五届实验动物科学学术委员会审核,评选出35篇优秀论文并在大会上进行交流;另外,特别邀请了长江学者辛洪波教授、国家杰青获得者江西农业大学任军教授、“973首席科学家”南昌大学生命科学学院院长及南昌大学人类衰老研究所所长田小利教授做了专题报告;本次会议吸引了32家实验动物生产和动物实验仪器设施企业的新产品、新工艺、新装备在现场参展,促进了产学研合作交流。

江西省实验动物学会于1998年12月21日在南昌召开了江西省实验动物学会成立十周年纪念暨学术交流会。2008年12月24日召开了江西省实验动物学会成立二十周年纪念暨学术交流会。来自全省从事实验动物与动物实验的专家、科技工作者、管理人员和有关领导共176人出席会议。他们当中不仅有实验动物学会的创始人和为实验动物科技工作做出过贡献的老一辈领导、专家、教授,还有许多脱颖而出的中青年专家教授,使学会二十周年庆典活动更加充满朝气和活力。

江西省实验动物学会和南昌大学医学院联合,于2001年7月31日至8月3日在井冈山召开了“2001医药院校实验动物科学学术研讨会”。会议代表一致建议

医药院校实验动物学教学应当纳入院校教学体系,要有统一的教学大纲、统一的教学内容、统一教材、统一教学方法。还建议在中国实验动物学会成立教学专业研究会,重点研究实验动物的教学问题。实验动物学科应与其他学科一样,通过举办全国的师资培训班,开展全面、系统的实验动物科学技术的学习培训活动,为培养更多更好的实验动物科技人才打好基础。

江西省实验动物学会一般每年召开一次学术研讨会,并组织人员参加全国性学术交流会,学会的学术活动呈现一派生机勃勃的景象。通过省内外、国内外和多层次的学术交流,促进了江西省实验动物科技的学术繁荣,展示了江西省相应的科技实力和学术进步。

2.2 开展实验动物与动物实验资格培训

按照国家《实验动物管理条例》等文件的要求,对从事实验动物工作的各类人员,逐步实行资格认可制度。依靠江西省实验动物学会的人才优势,开展实验动物与动物实验资格培训,组织专家编印了《实验动物科学》、《实验动物与动物实验基础知识问答》等教材。让实验动物从业人员接受专业培训,为实验动物从业人员上岗打下了坚实的基础。通过培训可以切磋学术问题,交流实验动物学前沿的最新进展、最新技术,促进科技知识流动,推动科技成果转化,为传播先进的实验动物科学知识,促进科技发展,培养实验动物科技创新人才创造了条件。其中,赣南医学院首创医教科技人员实验动物科学知识全员培训。至今,学会已举办培训班63期,参与培训人员共9 169人次。

2.3 开展实验动物与动物实验科技咨询服务

江西省实验动物学会已成立三十余年,有一支多年从事实验动物与动物实验的科技队伍,他们为江西省的实验动物科技工作做出了许多卓有成效的工作。学会利用专家技术优势,建立了江西省实验动物科技咨询服务平台,从实验动物设施建设、设计咨询、软件审查、验收、实验动物科技规划、管理文件的起草、规划的制定,到医药企业、科研院所动物实验室设计等等均可以提供咨询服务。学会协助政府完成了47个实验动物设施的图纸审查和设施验收工作,为江西省科技厅发放许可证提供了决策参考。通过专家认证的设施既节省了投资,运行费用低,而且更加科学,使有限的投入发挥了最大的效益。

2.4 科普宣传有声有色

江西省实验动物学会适时开展科普宣传活动,科

普宣传在提高全民科学素质的同时,也增强了学会的影响力。学会每年都积极参加省科协举办的“科技宣传日”、“科普法宣传”等活动,先后发放科普宣传材料3千余份。学会首创在全省范围内开展了一次寓教于乐的实验动物科学知识竞赛活动,参赛机构有38个,参赛人员183名,为普及和提高实验动物相关科技人员的专业知识水平做了积极尝试,取得了较好的效果。

2.5 加强国际交流

1993年8月通过江西省引进国外智力工作办公室,邀请日本实验动物技术者协会理事长田中富藏先生和日本顺天堂大学医学部实验动物室主任近藤惺吾先生来江西省进行讲学和技术交流。2004年10月华东地区第8次实验动物科学学术交流会上特邀外籍专家做科技前沿相关的专题报告,为与会代表提供了能与国外同行进行面对面交流的机会。另外,近年来江西省有南昌大学、江西省药物研究所、江西中医药大学3个团体会员机构多次派送实验动物科技人员作为访问学者出国学习交流。

3 存在的问题

3.1 对实验动物科技认识不足,重视程度不够

通过多年来的工作,各级领导对实验动物重要性有了一定的认识,重视程度也有了一定提高,但由于缺乏对实验动物科技的明确定位,主管领导频繁更换,未能将实验动物科技列入江西省优先发展计划,导致实验动物科技发展滞后于生命科学的发展。有些机构领导对实验动物科技存在较大偏见,大学、科研院所、制药企业、检定部门的法定代表人缺乏对有关实验动物法规、条例及实验动物重要性的基本了解,缺乏统筹规划和长远考虑,思想观念较陈旧,重视程度不够,严重制约了江西省实验动物科技的发展。

3.2 有关实验动物的法规、条例不健全,执行难度大

自国家科技部颁布《实验动物管理条例》以来,我国已颁发了一系列实验动物法规、条例和国家标准,江西省也制定了相应的实施细则和管理条例。但由于管理松散,各部门要求不一致,发展不平衡,科研课题立项、成果鉴定、药物研究、生产等方面虽然有要求,但还没有具体落实、检查,不少机构仍在使用不合格动物做实验。另外,教学用实验动物的质量存在较大问题,不利于科技发展。

3.3 缺乏经费支持

江西省经济发展相对滞后,科技项目总体经费投入不足,研究成果难以深入和转化,尤其是实验动物维持费用高,许多科技项目往往由于经费不足而无法继续进行。江西省实验动物科研经费严重不足,仅为周边省市投入的1/50~1/10。实验动物科技发展支撑条件建设也没有专门稳定的经费来源,用于人才培养的经费批准更是难上加难。

3.4 从业人员待遇低,留住人才引进人才的难度大

随着高等级实验动物和屏障设施的普遍使用,国内外、省内外合作逐渐增多,对实验动物管理人员提出了更高的要求,但江西省目前符合这样要求的人才十分匮乏,需要尽快引进或培养一批既懂技术又懂管理的高级复合型人才,为实验动物质量和设施运行提供保障。江西省现已有不少硕士和博士进入实验动物行业工作,为了稳定这支队伍需要建立实验动物专业技术人才的培养和评价机制。人才是科技发展的第一要素,科技创新靠的是优秀专业人才。但江西省经济欠发达,人才引进极度困难,即使现有人才也得不到应有的重视和待遇,致使人才流失严重,使原本就不充裕的专业人才资源更加匮乏。

3.5 实验动物生产品种少、品系单一

江西省实验动物生产基地生产实验动物仅有SD大鼠和KM小鼠,品种、品系、产量远不能满足科研、教学需要,科研用实验动物基本上都是从外省市购买。

4 “十四五”期间实验动物科技发展的指导思想与目标

4.1 指导思想

树立科学发展观,立足省情,面向世界,面向未来,瞄准目标,优化资源配置,加大实验动物科技发展力度,为生物医药、功能食品产业的开发以及参与国际竞争提供符合国际标准的实验基地,同时引进和培养实验动物科技人才,为我省生命科学事业和经济发展走出一条既符合国情、省情,又有江西特色的实验动物科技发展道路。

4.2 战略目标

“十四五”期间,通过资源重组和优化,建立全省实验动物生产、应用和质量监控的技术服务体系。以“十四五”发展为契机,加强实验动物法制管理,提高实验动物质量,加快实验动物科研开发,推进实验动物资源建设,建立人类疾病动物模型,形成有江西特色,通过国际机构论证并且对国外开放的动物实

验基地。同时建立一支具有现代科学技术的实验动物科技队伍,发展和完善实验动物科技建设。

4.3 战略措施

第一,加强实验动物法制化管理。认真贯彻国家有关实验动物管理办法,加强各部门之间的协调,强化监督管理,切实有效地发挥其职能。省级科研立项、成果鉴定及学位(硕士、博士)论文答辩中,实行实验动物一票否决制。

第二,实行实验动物生产、使用许可证制度。未取得生产许可证的机构,一律不准饲养、繁育和经营实验动物。未取得实验动物使用许可证的机构,进行动物实验、生产药品和生物制品所使用的动物实验一律视为不合格。取得了许可证的实验动物生产机构,出售动物时,必须提供合格证。如供应或出售不合格的实验动物,生产机构必须承担经济 and 法律责任。

第三,优化资源配置,加大整合和共享力度,完善江西省实验动物质量检验检测体系。实验动物质量监测是实验动物质量管理的重要环节。要进一步加大对江西省实验动物质量检验检测站的指导和管理力度,实行统一的实验动物质量论证和通报制度。建议省科技厅等政府部门设立实验动物专项,并在省、市有关科技项目中设立实验动物专题,以科技创新驱动实验动物科技发展,保障生物、医药发展,为江西省医药卫生和功能食品开发人才的培养创造条件。

第四,加强实验动物科技建设,以科研带动生产,不断提高实验动物质量。实施科学决策,重点支持实验动物新品种与新品系的培育及研究。例如,针对性地克隆一些可利用的实验动物基因,进行基因概貌调查研究;转基因动物、基因敲除动物在实验动物学中的应用;人类疾病动物模型研究;实验动物质量检测方法的研究;实验动物饲料、垫料标准化的研究等推动科技发展。

第五,加强对创新能力人才的培养,引进高层次领军人才,组建一支高水平创新团队,设立专门科技人才项目。提高江西省实验动物专业人员的业务水平和技术素质,增强科技后劲,促进实验动物科技发展。并且,加强国内、国际交流,谋求实现跨越式发展。江西省的实验动物科技起步较晚,虽然目前与国内发达地区还存在较大差距,但也具有某些优势。只要加强各种形式的国内、国际交流与合作,实现江西省实验动物科技在中部地区崛起的良好局面不是没有可能。充分发挥江西省的资源优势,探索跨越式发展之路,在某些方面率先取得突破,达到国内、国际领先水平,

将有利于江西省的实验动物科技及生物医药产业尽快与国际接轨。

5 小结及展望

回顾三十多年艰苦历程，我们感慨万千，深感成绩来之不易，由衷地感谢学科开创者为江西省实验动物科技发展奠定了良好的基础，感谢热心于实验动物的科技工作者。我们清醒地认识到，江西省与兄弟省市相比，还存在较大的差距，需要加倍努力。让我们继续开拓前行，集中发挥江西省实验动物研究机构的优势力量，加强实验动物科技的基础研究、动物模型研制和技术创新等方面的工作。我们坚信江西省实验动物科技发展的明天一定会更好。

[作者贡献]

褚芳：总执笔；
罗小泉：协助阅稿，撰写摘要与英文翻译；
许宝华、周银平、万筱荣、张洁：提供素材。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] 王锡乐, 巩薇, 胡建武, 等. 我国实验动物科技工作发展的政策支撑与思考[J]. 实验动物科学, 2020, 37(4):64-68. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2020.04.013.

[2] 褚芳, 黄雪梅, 徐丽英, 等. 江西省实验动物科技工作现状及发展对策思考[J]. 实验动物与比较医学, 2004, 24(3):163-166.

[3] 褚芳, 朱卫国, 徐丽英. 江西省实验动物科技现状及发展思考[J]. 实验动物与比较医学, 2012, 32(5): 416-420. DOI: 10.3969/j.

issn.1674-5817.2012.05.010.

[4] 罗厚良, 褚芳, 周银平, 等. 实验大鼠和小鼠全价颗粒饲料研究初报[J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(3):160-162.

[5] 钟细苟, 刘海忠, 田泽敏, 等. Wister系大鼠群暴发性痘样皮肤病病原学调查[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(2):111-112.

[6] 罗厚良, 田泽敏, 褚芳, 等. Wistar系大鼠实验观察群中暴发性痘样皮肤损害的流行病学特征分析[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(2):118-119, 110.

[7] 钟细苟, 褚芳, 刘海忠, 等. 维斯塔(Wistar)大鼠痘病的诊断(初报)[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1988(1):17-19.

[8] 罗厚良, 李兵, 钟细苟, 等. Wistar系大鼠群暴发性痘病的研究[J]. 中国实验动物学杂志, 1991, 1(2):13-17.

[9] 军事医学科学院实验动物中心. 实验动物病毒性疾病[M]. 北京: 农业出版社, 1992.

[10] 刘志勇, 刘昌英, 李守明, 等. 先天性非交通型脑积水大鼠模型研究[J]. 中华神经医学杂志, 2007, 6(4):337-339. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2007.04.004.

[11] 杨新跃, 刘志勇, 龚良庚, 等. Wistar系自发性脑积水大鼠的病理学及磁共振成像特征[J]. 中国比较医学杂志, 2005, 15(3):143-146. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2005.03.005.

[12] 褚芳, 罗厚良, 万筱荣, 等. 离乳大鼠假性早熟模型的建立及对雌活性物质的应答[J]. 中国实验动物学报, 1993, 1(2):88-92.

[13] 褚芳, 何国平, 李启富, 等. 人卵巢癌裸鼠移植实体瘤模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(8):33-36, 插7. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2008.08.010.

[14] 褚芳, 何国平, 余立群, 等. 人卵巢癌组织移植裸鼠实体瘤肝脾转移瘤模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(8):37-39, 插8. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2008.08.011.

[15] 刘书峰, 何耀武. 江西省建成SPF鸡生产群[J]. 上海实验动物科学, 1989, 9(1):56.

(收稿日期: 2021-12-01 修回日期: 2022-01-10)
(本文编辑: 富群华, 张俊彦)

《实验动物与比较医学》2022 年支持单位

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
苏州大学实验动物中心	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	华南农业大学实验动物中心
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		

(排名不分先后)

《实验动物与比较医学》编辑部



江善祥, 博士, 教授, 博士生导师, 现任南京农业大学动物医学院药理与毒理研究室主任、南京新兽药创制工程中心主任。兼任中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会副理事长, 中国动物药品学会副理事长, 江苏省新型兽药产业技术创新战略联盟化学药物部主任委员等职。主持承担了国家级、省部级课题20多项, 包括国家科技攻关、国家自然科学基金、公益性行业科研专项、国家重点研发计划等, 在新兽药及制剂的开发和研究等方面取得了显著成效; 曾获国家教委科技进步二等奖、教育部提名国家自然科学二等奖等, 参与制定多项兽药残留检测方法国家标准, 申请发明专利20余项, 获得发明专利授权12项。至今已培养硕士、

博士研究生100多人; 在国内外学术刊物上发表论文200余篇, 其中SCI论文30余篇; 主编和参编著作10部。

卢晓, 兽医学博士, 迪哲医药有限公司运营部副主任、IACUC主席, 兼任国际实验动物评估认证委员会(AAALAC)亚洲区评审员、美国实验动物学会(AALAS)注册技术专家、上海实验动物学会理事、上海市科委专家库成员、中国毒理学会认证毒理学家、农业农村部注册兽医师。先后在药明康德、阿斯利康制药等药企工作, 有超过15年的实验动物行业从业经验, 在非人灵长类、犬、兔和大小鼠等实验动物方面有丰富的管理经验和兽医照顾经验。



常用实验动物全身性麻醉药物的使用

卢晓^{1,2}, 于灵芝³, 周聪颖⁴, 李如颖¹, 陈文君¹, 江善祥²

(1. 迪哲医药有限公司, 上海 201203; 2. 南京农业大学动物医学院, 南京 210095; 3. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 4. 上海纽约大学文理学院, 上海 200062)

[摘要] 实验动物全身性麻醉药物多为管制药品, 在国内受到严格的监管。经典文献上推荐的多数实验动物全身性麻醉药物, 在市面往往购买不到, 或者购买时间非常长, 以至于在实际的临床应用时可选择的麻醉药物非常有限。加之部分实验动物兽医师对不同种属实验动物全身性麻醉药物的选择和使用缺乏相应的经验, 导致目前实验动物全身性麻醉成为限制行业发展的一个重要瓶颈。本文系统总结了市面上常见全身性麻醉药物的属性以及使用注意事项, 并在此基础上归纳了常见实验动物种属全身麻醉的注意事项。

[关键词] 实验动物; 全身性麻醉; 麻醉药物

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0018-08

General Anesthetics Commonly Used for Laboratory Animals

LU Xiao^{1,2}, YU Lingzhi³, CHOU Sonja Tsung-Ying⁴, LI Ruying¹, CHEN Wenjun¹, JIANG Shanxiang²

(1. Dizal Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201203, China; 2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China; 3. Shanghai Laboratory Animal Center, Shanghai 201203, China; 4. Division of Arts and Sciences, New York University Shanghai, Shanghai 200062, China)

Correspondence to: JIANG Shanxiang, E-mail: jiangshanxiang@163.com

[ABSTRACT] General anesthetics used for laboratory animals are mostly controlled drugs, and are subject to strict supervision by the competent government agency in China. Many general anesthetics recommended in the literature are either unavailable or difficult to procure/access in the market, resulting in limited options for clinical use. Furthermore, not all laboratory veterinarians have practical experience in species-specific anesthetic selection and use. Owing to these factors, general anesthesia presents a common institutional challenge in animal surgical programs and serves as a bottleneck that restricts the sustainable development of biomedical industries working with laboratory animal species. This article summarizes the pharmacological properties of common general anesthetics and provides suggestions for

[作者简介] 卢晓(1981—), 男, 博士, 主要从事实验动物和药理学研究。E-mail: frank.lu@dizalpharma.com

[通信作者] 江善祥(1966—), 男, 博士, 教授, 主要从事新兽药研发、药物代谢、环境生态毒理研究。E-mail: jiangshanxiang@163.com

general anesthesia in different laboratory animal species.

[Key words] Laboratory animal; General Anesthesia; Anesthetics

实验动物在生物医学基础研究以及药物或医疗器械上市前的评估中应用广泛。在实际的实验操作过程中,经常涉及到对受试实验动物进行手术以及其他侵入机体的操作,例如胚胎移植、肝脏原位肿瘤移植、肾脏切除等,这些操作均需要动物处于无意识状态,这就需要对实验动物进行全身性麻醉。此外,一些非手术操作,如心脏超声探查、颅内肿瘤的CT扫描、局部肿瘤的放射治疗等也需要借助于全身性麻醉以达到保定的目的。而麻醉效果的评估、围麻醉期的管理、麻醉药物的药理作用等都会对实验动物的生理状态以及实验结果产生深远的影响。本文对常见的全身性麻醉药物进行概括性介绍,并列举几种常见实验动物种属在麻醉过程中应该要注意的事项,以期实验动物兽医提供一定的参考。

1 常见全身性麻醉药物的使用介绍

全身性麻醉药物从给药途径上大致分为两类:注射类麻醉药和吸入性麻醉药。

注射类全身麻醉药有很多优点:临床应用广泛,易于操作,不需要额外的机器进行辅助,不需要气管插管,实验人员没有职业健康方面的担忧,而且在各种实验动物种属上的参考资料丰富^[1-4]。但是缺点也很明显:首先是注射类全身麻醉药多属于管制药物,购买程序繁复、周期长,管理要求严;其次,注射类全身麻醉药使用过程中,无论是静脉注射还是肌肉注射,动物血药浓度很难实时检测,动物生理状态难以控制,容易发生意外情况。

吸入性麻醉药因为使用挥发罐,能很精确地控制麻醉气体的通量,保证持续且稳定的输出,在动物处于正常的呼吸状态下,进入肺泡的麻醉气体可以和动脉血流维持一个动态的平衡,保证吸入动物都能进入相似的麻醉状态,减少动物组间的数据差异,增强实验结果的可重复性和实验数据的准确性。这一点对研究者来说是非常重要的。当然,吸入性麻醉药也有短板:首先,吸入性麻醉需要特定的设备进行操作,无法使用鼻罩的大动物还需要气管插管,这对使用人员的操作技术提出了较高的要求;其次吸入性麻醉药普遍具有挥发性强的特点,麻醉气体的泄露会对操作人员带来一定的职业安全隐患。

下面对常见的实验动物麻醉药物进行介绍:

1.1 戊巴比妥钠(Sodium pentobarbital)

戊巴比妥钠属于巴比妥类麻醉药,在《麻醉药物和精神药物目录》中属于第二类精神药物,通常以注射液的形式进行销售。其优点包括:使用方便,可以肌肉注射、腹腔注射(但其pH值高,腹腔注射可引起疼痛)或静脉注射;价格便宜;易于储存;麻醉起效快;麻醉持续时间较长。戊巴比妥钠在小鼠、大鼠、兔、犬的代谢半衰期分别为38、100、85和200 min^[5]。戊巴比妥钠的缺点也非常明显,包括:其属于法规管制药物,购买流程复杂;镇痛效果微弱^[6],手术结束后,需要额外使用镇痛药才能符合动物福利要求。

戊巴比妥钠对被麻醉动物的整体生理指标有显著影响,能够选择性地抑制葡萄糖转运^[7],并且对大鼠的基础肝脏血糖和胰岛素均有抑制作用^[8]。另外,注射戊巴比妥钠后,动物的心脏输出量也会受到影响。例如,大鼠静脉注射戊巴比妥钠会引起血压的快速下降,从105 mmHg快速下降至75 mmHg,直到30 min后才缓慢恢复到90 mmHg左右^[9]。此外,戊巴比妥钠对大鼠的呼吸抑制也很明显,注射后呼吸频率从195次/min降至71次/min,且与剂量呈正相关,40 mg/kg的戊巴比妥钠腹腔注射SD大鼠,能使血液pH降低1.2%(约0.09~0.10),同时血液中二氧化碳的压力升高46%(约11 mmHg);成年雄性BALB/c小鼠接受50 mg/kg剂量的戊巴比妥钠能够达到足够的镇静,但是60 mg/kg就会出现个别小鼠死亡的现象,提示戊巴比妥钠的安全范围非常窄^[10]。

戊巴比妥钠是一种较为理想的安乐死药物,但是不推荐作为实验动物的全身性麻醉药物。不可否认的是,戊巴比妥钠在实验动物研究中已有丰富的数据累积,因此在有充足的科学依据,且经过动物伦理委员会的审批,并有充足的兽医护理的前提下,仍可进行有条件的使用。

1.2 氯胺酮(Ketamine)

氯胺酮价格便宜,安全范围广,使用方便,在兽医临床上应用十分广泛。氯胺酮是非人灵长类、猫、猪短时麻醉的最佳选择之一,但对兔以及大鼠、小鼠的麻醉效果个体差异较大。与其他 α -2受体激动剂(美托咪啶、赛拉嗪)联合用药时,在犬、猫、猪、兔、啮齿类动物上均能达到理想的麻醉效果。使用氯

胺酮时, 需要配合阿托品或者格隆溴铵一起使用, 以减少唾液的分泌。动物注射氯胺酮后会出现“分离麻醉”, 即动物对周围环境出现了认知的错位, 这主要是由于氯胺酮抑制了下丘脑的电生理信号传递, 同时却能够刺激脑叶的活跃度^[11]。需要注意的是, 与其他麻醉药相比, 动物被氯胺酮麻醉后, 喉头反射和角膜反射依旧存在, 或者只是一定程度的降低, 这会对氯胺酮的使用量造成一定的误判。

氯胺酮具有良好的镇痛效果, 且肌肉注射的镇痛效果好于腹腔注射。但是氯胺酮溶液的pH值较低, 10%的氯胺酮注射液pH值在3.5左右, 这容易刺激注射部位的肌肉, 导致局部肌肉损伤(在小动物身上尤其明显)。氯胺酮不易与血浆蛋白结合, 进入机体后处于游离状态, 能够快速分布到血流丰富的器官中, 如大脑、肺脏。同时氯胺酮脂溶性高, 很容易穿透血脑屏障, 因此脑内的氯胺酮浓度比较高^[12]。

氯胺酮主要代谢产物为去甲氯胺酮, 呈水溶性, 主要通过肾脏排出, 因此减少肾脏的尿量分泌能够减缓氯胺酮的排出, 延长氯胺酮的麻醉时间。氯胺酮可以通过兴奋交感神经来促进心肌的收缩力, 增强心搏输出量, 这对于处于麻醉的动物尤其重要。在使用氯胺酮麻醉灵长类动物时, 对心率几乎没有影响^[13]。氯胺酮对呼吸的影响与剂量之间有相关性, 但影响也非常小。

1.3 舒泰-50(Zoletil 50)

舒泰-50 又称替拉唑(Telazol), 是左拉西泮(Zolazepam)和替来他明(Tiletamine)质量比1:1的混合物, 通常能提供30 min左右的外科麻醉时间。目前, 舒泰-50在国内为非管制药物。为增强药效, 降低不良反应, 舒泰-50常和赛拉嗪或者美托咪啶联合用药^[14]。

舒泰-50中起到麻醉主导作用的是替来他明, 作为N-甲基-D-天门冬氨酸(N-Methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体抑制剂, 在低剂量下对大鼠、小鼠有兴奋作用, 高剂量下有一定的麻醉效果, 但是对兔和豚鼠的麻醉效果不佳^[15]。舒泰-50在猫、犬、猴、大鼠体内的半衰期分别是2~4 h、1.2 h、1~1.5 h和30~40 min。低剂量舒泰-50对多数动物的血液生化指标没有影响, 但是大剂量肌肉注射可以引起兔体内尿素氮和肌酐水平上升^[16]。

1.4 阿佛丁(Avertin)

阿佛丁的有效成分为三溴乙醇(Tribromoethanol, TBE), 是质量分数为66.7%的叔戊醇溶液。目前, 阿佛丁是非管制药物, 使用方便, 麻醉时间短, 麻醉起效快, 在大鼠、小鼠的胚胎移植过程中应用广泛。

阿佛丁在溶液配制后的放置过程中会产生毒性, pH下降, 生成代谢产物。动物注射阿佛丁后胃部和小肠的液体分泌会增加, 有些动物还会出现肠梗阻现象, 这可能是导致动物死亡的主要原因^[17]。阿佛丁对动物的呼吸和心脏功能均有抑制作用, 且安全范围窄。由于阿佛丁溶液的不稳定性, 且不同动物个体对阿佛丁的敏感性差异很大, 雌性动物敏感性高于雄性动物, 因此在使用过程中建议现配现用, 尽量避免长时间的保存。

鉴于阿佛丁会引起动物的注射部位出现炎症或者腹膜炎, 会给动物造成比较严重的痛苦, 因此建议只在终点麻醉时使用^[17-18], 或者经过动物伦理委员会审核并有充足的兽医护理情况下, 只在少数短时麻醉时使用。

1.5 丙泊酚(Propofol)

丙泊酚作为临床上常用的一种全身性麻醉药, 通常以静脉注射方式用药, 麻醉起效快, 麻醉效果确切。丙泊酚的体内清除率非常快, 在犬、大鼠和猪体内大约为50~80 mL·min⁻¹·kg⁻¹, 在兔体内更快, 达到340 mL·min⁻¹·kg⁻¹。在8周龄的SD大鼠体内, 活性丙泊酚的有效时间约5.3 min, 在新西兰白兔体内只有2.1 min, 这表明丙泊酚对兔的麻醉效果要比其他种属差^[19]。

大鼠注射丙泊酚后会出现剂量相关性的血压下降, 但是心脏输出量和肾脏血量均没有明显变化^[20]。因此在心血管疾病研究时, 需要避免使用丙泊酚。另外丙泊酚并不能很好地穿透胎盘屏障, 羊静脉注射丙泊酚后, 母体浓度是胎儿的3倍, 注射1 h后, 可以达到6~9倍的浓度差。同样胎儿的代谢清除时间也会超过母体, 因此在动物剖宫产时不建议使用丙泊酚进行麻醉^[21]。使用丙泊酚(尤其是高剂量)后, 小鼠、兔、猫和猪有可能出现呼吸暂停, 因此在使用丙泊酚时需要重点关注动物的呼吸监护情况^[22]。

1.6 水合氯醛(Chloral hydrate)

水合氯醛在体内会经过肝脏乙醇脱氢酶的代谢, 形成三氯乙醇(Trichloro-ethanol), 该代谢产物是水合氯醛的活性物质, 同时也是一种强致癌物^[23]。水合氯醛的镇痛效果非常微弱^[24]。在低剂量时, 水合氯醛对心血管的影响较小, 但是在麻醉剂量下对心脏和呼吸系统的抑制非常严重^[23]。

水合氯醛溶液对黏膜和肌肉组织的刺激性很大, 肌肉注射或者腹腔注射会造成较为严重的炎症或坏死^[23]。水合氯醛大剂量使用时会引起溶血或者出现血尿, 重复给药会引起肝脏和肾脏的严重损伤。而且这

种对动物机体的损伤没有种属差异。目前, 兽医临床和实验动物行业已不再推荐使用水合氯醛进行动物麻醉^[25]。但是由于水合氯醛对一些受体刺激较小, 在某些特殊的药理学实验中还可能被用到; 如果使用水合氯醛, 则必须经过动物伦理委员会的审批, 且有相应的减少动物痛苦的兽医护理措施。

1.7 乌拉坦(Urethane)

乌拉坦的化学成分为氨基甲酸乙酯 (Ethyl carbamate), 易溶于水、乙醇和脂类。乌拉坦常用于神经学研究, 因为其对神经传递的影响较小, 且一次注射后可以维持较长时间的稳定麻醉 (6~10 h)。乌拉坦麻醉过程中对心肺系统的影响也很小。但是与水合氯醛相似, 乌拉坦也是强致癌物质^[26]。因此, 出于职业卫生的考虑, 称量乌拉坦粉末时需要佩戴防护口罩和手套, 且要在通风柜内进行配制。

乌拉坦对动物的血压和血糖都有影响。雌性Wistar大鼠腹腔注射 1.2 g/kg 乌拉坦, 可使平均血压降至 95 mmHg, 并持续 1 h。禁食后的大鼠注射 1.25 g/kg 乌拉坦 1 h 后, 血糖值可由 58 mg/dL (1 mg/dL=0.055 5 mmol/L) 升高到 168 mg/dL^[27]。另外, 注射乌拉坦有肠系膜毛细血管毒性, 会造成腹腔积液, 并继发肾脏的损伤。另有研究表明, 乌拉坦的麻醉效果是通过直接改变神经细胞膜的兴奋性, 而不是通过干扰神经信号传递, 这会造成神经细胞的损伤^[26]。因此在使用乌拉坦之前要考虑是否有其他可替代的麻醉药, 不建议在存活手术中使用乌拉坦。

1.8 美托咪啉(Medetomidine)和赛拉嗪(Xylazine)

美托咪啉存在两种异构体: 右旋美托咪啉和左旋美托咪啉。只有右旋美托咪啉有生物活性, 具有麻醉效果。大鼠皮下注射美托咪啉吸收迅速, 血浆浓度在 10 min 内可以达到峰值; 在大脑内约 15~20 min 达到峰值, 浓度是血浆中的 5 倍。美托咪啉代谢清除时间约为 1.6 h, 对大鼠可以产生良好的麻醉效果, 但是对小鼠和兔的效果不明显^[27-28]。

赛拉嗪作为一种 α -2受体激动剂, 很少单独使用, 通常会与其他麻醉药联合使用起到麻醉和镇痛的效果。赛拉嗪对小鼠的麻醉效果很差, 且其镇痛效果在不同品系间的差异也很大。猪对于绝大多数 α -2受体激动剂不敏感, 使用任何试验剂量的赛拉嗪都不会对猪产生足够的镇静或镇痛效果^[29]。由于赛拉嗪能够抑制胰岛素的分泌, 动物注射赛拉嗪会引起高血糖^[30-31]。

这两种药物通常会和氯胺酮或者舒泰-50 分别进行联合用药, 以弥补单一药物的缺点, 将麻醉效果最优化。

1.9 异氟烷(Isoflurane)

脑部手术使用异氟烷可能是最佳的选择。由于异氟烷能够扩张外周血管, 但是对心肌的收缩性抑制作用并不明显, 所以当使用异氟烷麻醉时, 动物的动脉血压能够降低, 但颅内压力没有明显改变。异氟烷对心脏局部缺血性坏死有一定的保护作用, 例如冠状动脉阻塞小鼠模型使用异氟烷麻醉时, 能使阻塞区域变小^[32]。异氟烷分子非常稳定, 在体内只有约 0.2% 的摄入量发生代谢, 这能极大减少肝脏和肾脏的损伤。在为期 12 d 的重复实验中, 结果表明异氟烷的麻醉效果非常一致^[33]。异氟烷对于妊娠或者新生大鼠、小鼠幼崽是安全的, 是胚胎移植过程中推荐使用的麻醉剂^[34], 同样也是剪尾采样和剪脚趾采样操作时推荐的麻醉剂。

1.10 乙醚(Ether)

乙醚是非常古老的气体麻醉剂, 在现代非可燃性的高效气体麻醉剂出现之前应用广泛。

目前, 乙醚已不推荐使用, 其中一个重要原因是, 当空气中乙醚浓度超过 1.8% 后极易发生爆燃。在动物麻醉以及苏醒过程中, 甚至动物被安乐死后, 从动物体内散发出的乙醚很容易达到爆燃的临界值。除了容易爆燃外, 乙醚对呼吸道有很强的刺激性, 会促使呼吸道分泌物增加。

与其他气体相比, 乙醚麻醉起效浓度比较高。使用乙醚麻醉时, 多数动物的最小肺泡浓度 (minimum alveolar concentration, MAC) 为 1.9%, 且由于其具有较高的血气分布系数, 需要较长时间才能从各个器官中排出, 所以动物出现过量麻醉后, 抢救困难^[35]。

2 不同种属实验动物的麻醉

2.1 啮齿类动物(大鼠、小鼠)

影响啮齿类动物如大鼠和小鼠麻醉效果的因素有很多, 基因修饰大鼠、小鼠遗传背景不同, 插入或者敲除基因表达都会对麻醉效果有影响。饲养环境对麻醉效果也有不可忽视的影响, 比如有些刨花垫料能够改变肝脏中酶的变化, 影响麻醉药物的体内代谢^[36]。群养的啮齿类动物麻醉后需要特别注意观察, 直到动物能够完全自主活动, 因为群养的啮齿类动物存在社会等级, 低等级的动物通常成为被攻击的对象, 尤其在没有清醒的情况下很可能被啃食。

啮齿类动物由于特殊的胃部生理结构, 出现呕吐的症状极其罕见, 除非检测某些生理指标时需要禁食, 否则没有必要麻醉前禁食。由于啮齿类动物代谢速率

表1 几种常用麻醉药的优缺点比较

Table 1 Positives and negatives of commonly used anesthetic drugs

麻醉药名称	优点	缺点
戊巴比妥钠	使用方便; 价格便宜; 易于储存; 麻醉起效快; 麻醉持续时间较长	管制药物, 购买困难; 注射部位刺激; 镇痛效果微弱; 心肺系统抑制明显; 安全范围窄
氯胺酮	价格便宜; 使用方便; 安全范围广; 镇痛效果好; 对心肺系统抑制不明显	管制药物, 购买困难; 分离麻醉, 腺体分泌增加; 注射部位有一定刺激性
舒泰-50	非管制药物; 使用方便; 有一定的镇痛效果; 对心肺系统的抑制不明显	价格较高; 适用的种属范围小; 麻醉时间较短
阿佛丁	非管制药物; 使用方便; 麻醉时间短, 麻醉起效快	非药品级药物, 配制需要有明确规范要求 (pH 值、无菌、热原控制、均一性等); 不耐储存, 现配现用; 心肺抑制明显; 注射部位刺激严重; 安全范围窄
丙泊酚	非管制药物; 体内代谢速率快	只能静脉缓慢滴注; 维持麻醉的时间短; 镇痛效果微弱
水合氯醛	非管制药物	非药品级药物, 配制需要有明确规范要求 (pH 值、无菌、热原控制、均一性等); 代谢产物为强致癌物; 对注射部位刺激严重; 镇痛效果微弱; 心肺系统抑制明显; 多个组织器官有明显毒性
乌拉坦	非管制药物	非药品级药物, 配制需要有明确规范要求 (pH 值、无菌、热原控制、均一性等); 强致癌物; 心肺系统抑制明显; 有职业健康隐患; 麻醉剂量下, 对组织器官有明显毒性
右旋美托咪啶	非管制药物; 麻醉起效快; 有镇痛效果; 心肺系统抑制不明显	价格较高; 适用的种属范围小
异氟烷	非管制药物; 安全范围广; 麻醉起效快, 苏醒快; 种属适用范围广; 麻醉剂量下, 肝肾毒性小; 麻醉效果一致性好	需要特制的挥发罐
乙醚	非管制药物	需要特制的挥发罐; 爆炸危险性高; 有职业健康隐患; 清除率慢

快, 禁食时间应该尽可能缩短, 在任何时候都不应该禁水。

在使用注射麻醉药时, 应称量每只啮齿类动物的体质量, 根据体质量来计算使用麻醉药的剂量, 而不应该对所有组内的啮齿类动物注射相同剂量。这是因为啮齿类动物的体质量轻, 使用的麻醉药体积也小, 很容易过量注射或者注射量不足。尤其是老年组动物的个体生理状态差别很大, 准确称质量更加重要。氯胺酮联合赛拉嗪或美托咪啶是啮齿类动物注射麻醉的首选, 其中一个明显优点就是联合用药的麻醉效果可以被下面 3 种药物逆转: 咪唑克生 (Idazoxan)、育亨宾 (Yohimbine) 或阿替美唑 (Atipamezole)^[37]。

由于啮齿类动物的体表面积相对较大, 麻醉过程中的保温非常重要, 手术过程中一些细节也会显著降低动物体温, 比如: 术部剃毛、使用乙醇溶液和碘伏等消毒液、动物被放置在金属材质的操作台面上、操作环境通风量大等。

2.2 兔

兔是公认的麻醉困难的实验动物之一。大量文献报告, 由于种属、性别、个体的差异, 兔对麻醉剂的敏感性差异巨大^[1, 17, 25]; 同时由于其特殊的解剖结构, 插管也非常困难; 而且麻醉药对不同品种兔呼吸系统的抑制作用差异也很大^[25]。

兔很容易感染各种病原体, 如嗜肺巴斯德杆菌、肺支原体等, 会引起一系列的呼吸系统症状, 这对兔的麻醉药耐受性产生一定影响。被感染的兔由于肺功能受损, 机体适应了高碳酸状态, 麻醉后会出现自主呼吸困难^[38]。因此, 选择 SPF 兔可以排除感染因素对麻醉药的影响。

兔同大鼠、小鼠一样, 由于胃部构造特殊, 极少发生呕吐。兔的胃部排空时间非常长, 即便禁食 5 d, 仍有食物留存在胃内。另外, 由于兔呼吸基本依赖于膈肌, 理论上, 禁食 12 h 可有效降低胃内容物的体积, 避免压迫膈肌, 满足麻醉的需求。需要注意的是, 3 kg 以下的兔在禁食的情况下, 会出现血糖快速下降以及体内产酸量快速上升, 而且体质量低于 2 kg 的兔对酸中毒的代偿能力较弱。因此, 对于 3 kg 以下的兔, 禁食需要谨慎, 禁食时间不应超过 12 h, 且麻醉前无需禁水^[1, 39]。

注射部位应避开颈部位置, 因为保定时会抓取颈部的皮肤。成年新西兰白兔或荷兰兔肌内注射时, 每次剂量应该低于 1.0 mL。静脉注射采用的部位通常为耳缘静脉, 在注射前, 尤其是新员工培训时, 建议在注射部位涂抹具有局部麻醉作用的药物 (如利多卡因凝胶), 以缓解局部注射的疼痛。

长时间麻醉或者肠道手术后, 建议给兔口服乳酸

杆菌或者健康兔的粪便，这样能够显著改善其肠道菌群^[38]。

2.3 小型猪

小型猪容易发生局部动脉血管的痉挛以及心律不齐，由于皮下脂肪较厚，因此很难检测外周动脉的变化。小型猪的肺脏较脆弱，因此在麻醉后需要呼吸机介入时，应该注意气体的压力。

小型猪的麻醉多采用肌肉注射的方式，注射部位为颈部或后腿肌肉处，尤其是后颈部的肌肉是最佳选择。小型猪的外周静脉不容易观察到，如采用静脉注射，最好选用耳部静脉。另外，小型猪麻醉后要特别注意心率的监控。小型猪的心率在70~150次/min，低于70次/min就需要引起重视^[40]。麻醉药对心率的影响也要考虑，比如芬太尼和赛拉嗪能降低心率，而阿托品能够提高心率。

2.4 犬

犬作为实验动物历史悠久，在兽医临床上，犬用麻醉剂的选择范围非常广。同其他大动物一样，麻醉前需要查看历史健康检查记录，动物个体的异常对于麻醉效果有很大影响。此外，麻醉前应收集一些基本的生理数据，如心率、呼吸频率、直肠温度、黏膜颜色以及毛细血管再充盈时间等。很多机构都建议麻醉前收集血液学数据，至少包括总蛋白水平和红细胞比容。术前需要6~12 h禁食，在完全苏醒前不能提供食物^[41]。

在诱导麻醉前，打开静脉通路有几个好处：可以进行静脉维持麻醉；有利于补充体液，维持渗透压平衡，防止水分流失；有利于麻醉意外情况的紧急抢救。静脉通路常用位置为前肢的头静脉，或后肢的隐静脉，必要时可以在镇静或者麻醉后使用颈部静脉进行留置针的埋置；留置针埋置后，需要使用绷带进行固定，且需要佩戴头套防止啃咬。

麻醉期间如需要进行补液，建议的补液速率为5~10 mL·kg⁻¹·h⁻¹，以维持电解质平衡，防止脱水。麻醉过程中需要保温并进行监护，当心率持续低于60次/min，则需要干预^[41]。

2.5 非人灵长类

实验用非人灵长类动物的种属覆盖范围很广，从只有几百克的新大陆猴到重达50 kg的猩猩均有使用的记录，因此麻醉药的选择以及用药量差异很大。由于非人灵长类动物与人之间存在多种人兽共患病，因此在麻醉时，需要特别注意生物安全防护。接触非人灵长类动物的操作人员均应该有足够的培训，能够充分

意识到人畜共患病的危害^[40]。

为防止呕吐物进入肺部，非人灵长类动物在麻醉前通常禁食12 h，其中新大陆猴（狨猴和绢毛猴）由于体质量较轻，通常禁食6~8 h。禁水既不能降低胃内容物量，也不能升高体液pH值，因此不建议麻醉前禁水。

表2 常见种属不同麻醉药的推荐使用方法
Table 2 Recommended usage of common anesthetic drugs

种属	麻醉药名称	剂量	给药途径
小鼠	氯胺酮联合右旋美托咪啶	75/0.5 mg/kg	IP
	舒泰-50联合赛拉嗪	80/20 mg/kg	IP
大鼠	氯胺酮联合赛拉嗪	60/6 mg/kg	IP
	舒泰-50	40~50 mg/kg	IP, IM
兔	氯胺酮联合赛拉嗪	35/5 mg/kg	IM
	舒泰-50联合赛拉嗪	15/5 mg/kg	IM
猪	氯胺酮联合赛拉嗪	20/2 mg/kg	IM
	舒泰-50	6~8 mg/kg	IM
犬	丙泊酚	0.2 mg·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	IV
	舒泰-50	7.5~25 mg/kg	IM
食蟹猴	氯胺酮	5~20 mg/kg	IM
	舒泰-50	2~5 mg/kg	IM

注：IP指腹腔注射，IV指静脉注射，IM指肌肉注射。以上数据根据文献42整理。

3 小结和展望

没有一种麻醉药物可以适用于所有动物，也没有一种麻醉药物是没有缺点的。每种麻醉药物的麻醉效果与实验动物的生理状态，以及实验动物对疼痛的感知程度密切相关。因此选用麻醉药时，需要重点考虑动物的生理特点和动物种属特性，以及科研目的。以戊巴比妥钠为例，同样剂量下，雌性NZW小鼠的麻醉时间为50 min，而在DBA小鼠则长达250 min。环境因素也会影响麻醉时长，包括饮食、环境温度、垫料等。例如，环境温度为18℃时，BALB/c小鼠腹腔注射60 mg/kg戊巴比妥钠后，麻醉时长为195 min；而环境温度为26℃时，麻醉时间缩短为100 min^[43]。动物在怀孕状态下进行麻醉，无论使用的麻醉药物能否穿过胎盘屏障，都需要谨慎；而且在怀孕时，母体的生理状态如生理负荷、激素水平都有很大差异，这会导致动物对麻醉药的敏感性不同。

动物的健康状态需要在麻醉前进行详细评估。虽然在实际操作中，对啮齿类动物进行全面体检很难实现，但是一些基本的情况应该评估到，如荷瘤状态、警觉性、脱水与否等，这些都会对麻醉效果以及麻醉后的恢复产生影响。

注射方式对麻醉药效果的影响也很大。啮齿类动物常用腹腔注射,而对大动物则最常用的是肌肉注射和静脉注射。在任何动物上,都不推荐皮下注射,因为皮下注射后,麻醉药的诱导期会变长,而且起效时间不一致。

气体麻醉时,通常使用精密的挥发罐将麻醉气体和氧气进行混合,然后通入待麻醉动物的呼吸系统起作用。不同麻醉气体的沸点是不同的。常用麻醉气体中,只有异氟烷和氟烷(Halothane)具有非常接近的沸点,可以共用挥发罐;而其他麻醉气体必须有专门的挥发罐。如果将不同麻醉气体混合在同一个挥发罐内使用,会无法确定输出的麻醉气体浓度。使用气体麻醉时,需要特别注意麻醉废气对操作人员健康的影响。如麻醉操作在有硬管连接到外部的安全柜(Ⅱ级, B2型)内操作时,可以不用考虑废气回收;其他情况下,都需要将麻醉盒连接至活性炭吸附装置或者负压抽气系统。需要注意的是,活性炭过滤网对于一氧化氮的吸附效果很差;另外,吸附管需要定期更换,以确保不超过其吸附容量。

实验动物兽医对麻醉相关知识的储备非常重要。实验动物兽医需要知道所使用药物的优缺点和常见的不良反应,并熟知被麻醉动物的生理特性,从而利用这些知识审核实验方案,培训员工,协助实验人员麻醉,保障动物福利,提高效率。尤其是在培训员工方面特别重要,因为实际操作过程中,对动物进行麻醉的通常是实验人员而不是实验动物兽医,实验动物兽医主要起到监督的作用,此时需要保证操作人员得到足够的培训。

总之,影响麻醉药物的麻醉效果因素众多,多数麻醉药对动物各项生理指标都有影响,能够直接影响实验数据和实验动物的福利。因此在麻醉的选择上应充分考虑麻醉药的储存要求、使用方法,以及麻醉药在不同种属上的差异,不同麻醉药对动物生理指标的影响,同时结合实验目的,选择最适合的麻醉药。

[作者贡献]

卢晓:负责文章的材料收集和整理,并结合实践进行文章撰写;

于灵芝:负责部分英文材料的翻译,以及材料整理;

周聪颖:对全文的数据准确性进行确认,并修改英文摘要;

李如颖、陈文君:提供第一线的实际操作经验,并提出修改建议;

江善祥:对全文内容提供指导。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] GARDHOUSE S, SANCHEZ A. Rabbit sedation and anesthesia [J]. Vet Clin North Am Exot Anim Pract, 2022, 25(1): 181-210. DOI:10.1016/j.cvex.2021.08.012.
- [2] ADAMS S, PACHARINSAK C. Mouse anesthesia and analgesia[J]. Curr Protoc Mouse Biol, 2015, 5(1): 51-63. DOI: 10.1002/9780470942390.mo140179.
- [3] DAVIS J A. Mouse and rat anesthesia and analgesia[J]. Curr Protoc Neurosci, 2008, Appendix 4: Appendix 4B. DOI:10.1002/0471142301.nsa04bs42.
- [4] DOWNING F, GIBSON S. Anaesthesia of brachycephalic dogs [J]. J Small Anim Pract, 2018, 59(12): 725-733. DOI: 10.1111/jsap.12948.
- [5] IWASAKI K, SUDO H, YAMADA K, et al. Effects of single injection of local anesthetic agents on intervertebral disc degeneration: *ex vivo* and long-term *in vivo* experimental study[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e109851. DOI:10.1371/journal.pone.0109851.
- [6] ECKHARDT E T, GRELLIS M E, TABACHNICK I I. Effect of some analgesic and anti-inflammatory agents on sodium pentobarbital anesthesia[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1958, 98(2):423-424. DOI:10.3181/00379727-98-24065.
- [7] HASPEL H C, STEPHENSON K N, DAVIES-HILL T, et al. Effects of barbiturates on facilitative glucose transporters are pharmacologically specific and isoform selective[J]. J Membr Biol, 1999, 169(1):45-53. DOI:10.1007/pl00005900.
- [8] CLARK P W, JENKINS A B, KRAEGER E W. Pentobarbital reduces basal liver glucose output and its insulin suppression in rats[J]. Am J Physiol, 1990, 258(4 Pt 1): E701-707. DOI:10.1152/ajpendo.1990.258.4.E701.
- [9] LIU G, CULL G, WANG L, et al. Hypercapnia impairs vasoreactivity to changes in blood pressure and intraocular pressure in rat retina[J]. Optom Vis Sci, 2019, 96(7): 470-476. DOI:10.1097/OPX.0000000000001400.
- [10] ERHARDT W, HEBESTEDT A, ASCHENBRENNER G, et al. A comparative study with various anesthetics in mice (pentobarbitone, ketamine-xylazine, carfentanyl-etomidate) [J]. Res Exp Med (Berl), 1984, 184(3): 159-169. DOI: 10.1007/BF01852390.
- [11] NOWACKA A, BORCZYK M. Ketamine applications beyond anesthesia: A literature review[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 860: 172547. DOI:10.1016/j.ejphar.2019.172547.
- [12] DURRANI Z, WINNIE A P, ZSIGMOND E K, et al. Ketamine for intravenous regional anesthesia[J]. Anesth Analg, 1989, 68(3): 328-332.
- [13] BROWNLEE R D, KASS P H, SAMMAK R L. Blood pressure reference intervals for ketamine-sedated rhesus macaques (*Macaca mulatta*) [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2020, 59(1):24-29. DOI:10.30802/AALAS-JAALAS-19-000072.
- [14] JANG H S, KWON Y S, LEE M G, et al. The effect of tiletamine/zolazepam (Zoletile) combination with xylazine or medetomidine on electroencephalograms in dogs[J]. J Vet Med Sci, 2004, 66(5):501-507. DOI:10.1292/jvms.66.501.
- [15] LEE M C, LEE C H, HONG S L, et al. Establishment of a rabbit model of obstructive sleep apnea by paralyzing the genioglossus[J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2013, 139(8):834-840. DOI:10.1001/jamaoto.2013.4001.

- [16] POPIK P, HOŁUJ M, KOS T, et al. Comparison of the psychopharmacological effects of tiletamine and ketamine in rodents[J]. *Neurotox Res*, 2017, 32(4): 544-554. DOI: 10.1007/s12640-017-9759-0.
- [17] MEYER R E, FISH R E. A review of tribromoethanol anesthesia for production of genetically engineered mice and rats[J]. *Lab Anim (NY)*, 2005, 34(10):47-52. DOI:10.1038/labani105-47.
- [18] PAPAIOANNOU V E, FOX J G. Efficacy of tribromoethanol anesthesia in mice[J]. *Lab Anim Sci*, 1993, 43(2):189-192.
- [19] CAMPOS S, MONTEIRO J, VALENZUELA B, et al. Evidence of different propofol pharmacokinetics under short and prolonged infusion times in rabbits[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2016, 118(6):421-431. DOI:10.1111/bcpt.12521.
- [20] HE F Y, FENG W Z, ZHONG J, et al. Effects of propofol and dexmedetomidine anesthesia on Th1/Th2 of rat spinal cord injury[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(6):1355-1361.
- [21] MOTSCH J, ROGGENBACH J. Propofol infusions syndrom[J]. *Anaesthesist*, 2004, 53(10):1009-1024. DOI:10.1007/s00101-004-0756-3.
- [22] BELLMAN M H, PLEUVRY B J. Comparison of the respiratory effects of ICI 35 868 and thiopentone in the rabbit[J]. *Br J Anaesth*, 1981, 53(4):425-429. DOI:10.1093/bja/53.4.425.
- [23] WILSON M E, KARAOU I M, AL DJASIM L, et al. The safety and efficacy of chloral hydrate sedation for pediatric ophthalmic procedures: a retrospective review[J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2014, 51(3): 154-159. DOI: 10.3928/01913913-20140311-01.
- [24] SILVERMAN J, MUIR W W 3rd. A review of laboratory animal anesthesia with chloral hydrate and chloralose[J]. *Lab Anim Sci*, 1993, 43(3):210-216.
- [25] SOTOMAYOR R E, COLLINS T F. Mutagenicity, metabolism, and DNA interactions of urethane[J]. *Toxicol Ind Health*, 1990, 6(1):71-108. DOI:10.1177/074823379000600106.
- [26] FIELD K J, LANG C M. Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature[J]. *Lab Anim*, 1988, 22(3): 255-262. DOI:10.1258/002367788780746331.
- [27] MERO M, VAINIONPÄÄ S, VASENIUS J, et al. Medetomidine: ketamine: diazepam anesthesia in the rabbit[J]. *Acta Vet Scand Suppl*, 1989, 85:135-137.
- [28] ALVES H N C, DA SILVA A L M, OLSSON I A S, et al. Anesthesia with intraperitoneal propofol, medetomidine, and fentanyl in rats[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2010, 49(4): 454-459.
- [29] GÓMEZ DE SEGURA IA, TENDILLO FJ, MASCÍAS A, et al. Actions of xylazine in young swine[J]. *Am J Vet Res*, 1997, 58(1):99-102. PMID: 8989504.
- [30] MIWA Y, TSUBOTA K, KURIHARA T. Effect of midazolam, medetomidine, and butorphanol tartrate combination anesthetic on electroretinograms of mice[J]. *Mol Vis*, 2019, 25: 645-653.
- [31] GREENE S A, THURMON J C. Xylazine: a review of its pharmacology and use in veterinary medicine[J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 1988, 11(4): 295-313. DOI: 10.1111/j. 1365-2885.1988.tb00189.x.
- [32] ROALDSEN M, CIOSEK, RICHARDSEN E, et al. Isoflurane increases tolerance to renal ischemia reperfusion injury compared to propofol: an experimental study in pigs[J]. *J Invest Surg*, 2021, 34(4): 359-365. DOI: 10.1080/08941939.2019.1637038.
- [33] SMITH J C, CORBIN T J, MCCABE J G, et al. Isoflurane with morphine is a suitable anaesthetic regimen for embryo transfer in the production of transgenic rats[J]. *Lab Anim*, 2004, 38(1):38-43. DOI:10.1258/00236770460734371.
- [34] STOELTING R K, LONGNECKER D E, EGER E I 2nd. Minimum alveolar concentrations in man on awakening from methoxyflurane, halothane, ether and fluroxene anesthesia: MAC awake[J]. *Anesthesiology*, 1970, 33(1): 5-9. DOI:10.1097/0000542-197007000-00004.
- [35] YILDIRIM F, YILDIRIM B A, YILDIZ A, et al. Evaluation of perlite, wood shavings and corncobs for bedding material in rats[J]. *J S Afr Vet Assoc*, 2017, 88(0): e1-e7. DOI:10.4102/jsava.v88i0.1492.
- [36] JIRON J M, MENDIETA CALLE J L, CASTILLO E J, et al. Comparison of isoflurane, ketamine-dexmedetomidine, and ketamine-xylazine for general anesthesia during oral procedures in rice rats (*Oryzomys palustris*)[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2019, 58(1): 40-49. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-18-000032.
- [37] AGUIAR-ALVES F, LE H N, TRAN V G, et al. Anti-virulence bispecific monoclonal antibody mediated protection against *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia in a rabbit model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021 (2021-12-13) [2022-01-10]. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.02022-21>.
- [38] ERHARDT W. Anesthesia procedures in the rabbit[J]. *Tierarztl Prax*, 1984, 12(3):391-402.
- [39] BURGOS-RODRIGUEZ A G. Zoonotic diseases of primates[J]. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 2011, 14(3): 557-575, viii. DOI:10.1016/j.cvex.2011.05.006.
- [40] BARBOSA PEREIRA C, DOHMEIER H, KUNCZIK J, et al. Contactless monitoring of heart and respiratory rate in anesthetized pigs using infrared thermography[J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0224747. DOI:10.1371/journal.pone.0224747.
- [41] GRUBB T, SAGER J, GAYNOR J S, et al. 2020 AAHA anesthesia and monitoring guidelines for dogs and cats[J]. *J Am Anim Hosp Assoc*, 2020, 56(2):59-82. DOI:10.5326/JAAHA-MS-7055.
- [42] FOX J G, ANDERSON L C, OTTO G M, et al. Laboratory animal medicine[M]. 3rd ed. California: Academic Press, 2015.
- [43] DE CASTRO J, BOLFI F, DE CARVALHO L R, et al. The temperature and humidity in a low-flow anesthesia workstation with and without a heat and moisture exchanger [J]. *Anesth Analg*, 2011, 113(3): 534-538. DOI: 10.1213/ane.0b013e31822402df.

(收稿日期:2022-01-02 修回日期:2022-02-10)

(本文编辑:张俊彦)

舒泰和陆眠宁复合剂量对巴马小型猪的麻醉效果

薛来恩

(联勤保障部队第九〇〇医院基础医学实验室, 福州 350025)

[摘要] **目的** 研究舒泰和陆眠宁复合麻醉对巴马小型猪的麻醉效果, 并初步观察麻醉对小型猪生理指标的影响。**方法** 对外科腹部手术实验中的32头小型猪进行复合麻醉, 颈后肌肉注射2 mg/kg陆眠宁和3.0~7.0 mg/kg不同剂量的舒泰, 观察麻醉效果, 记录麻醉诱导时间、维持时间和苏醒时间, 监测术前生理指标。**结果** 舒泰剂量在3.0~3.9 mg/kg时诱导麻醉成功率为50%, 4.0~7.0 mg/kg剂量时诱导麻醉成功率为100%; 舒泰剂量在4.0~7.0 mg/kg时, 麻醉药剂量越高, 诱导麻醉时间越短, 维持时间越长, 苏醒时间未受影响; 舒泰剂量在5.0~5.9 mg/kg时, 各项生理指标更接近正常范围。**结论** 舒泰剂量5.0~5.9 mg/kg复合陆眠宁2 mg/kg对巴马小型猪起到良好的麻醉效果, 手术过程中各项生理指标均趋于稳定。

[关键词] 巴马小型猪; 舒泰; 陆眠宁; 麻醉

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0026-05

Anesthetic Effects of Zoletil and Xylazine on Bama Mini-pigs

XUE Laien

(Basic Medical Laboratory, The 900th Hospital of Joint Logistics Support Force, PLA, Fuzhou 350025, China)

Correspondence to: XUE Laien, E-mail: 137992781@qq.com

[ABSTRACT] **Objective** To study the anesthetic effects of Zoletil and Xylazine combined anesthesia on Bama mini-pig, and to observe the effect of combined anesthesia on the physiological indexes of Bama mini-pigs. **Methods** Thirty-two Bama mini-pigs undergoing surgical abdominal surgery were anesthetized by injecting Xylazine (2 mg/kg) combined with different doses of Zoletil (3.0-7.0 mg/kg) into the muscles behind the neck. The effective time of anesthesia, anesthesia maintenance time, and recovery time were recorded. Body temperature, respiration, heart rate, and other physiological indicators were monitored during anesthesia. **Results** The success rate of induction anesthesia at 3.0-3.9 mg/kg and 4.0-7.0 mg/kg of Zoletil was 50% and 100%, respectively. When the dosage of Zoletil was 4.0-7.0 mg/kg, the induction anesthesia time was shorter, the anesthesia maintenance time was longer, and there was no effect on the recovery time. When the dose of Zoletil was 5.0-5.9 mg/kg, the physiological indicators were close to the normal range. **Conclusion** The dosage of 5.0-5.9 mg/kg Zoletil combined with 2 mg/kg Xylazine had a positive effect on Bama mini-pigs as the vital signs remained stable during operation.

[Key words] Bama mini-pigs; Zoletil; Xylazine; Anesthetic

小型猪是生物医学研究中广泛应用的模型动物, 在外科手术实验中经常需要对小型猪进行麻醉。良好的麻醉效果和麻醉过程中稳定的生命体征是保证手术顺利进行的重要因素^[1]。猪体型较大, 诱导麻醉较为困难^[2], 其中肌肉注射是目前最有效的麻醉方式。并且在确保动物麻醉效果和安全的的前提下, 应遵循动物福利原则, 做好麻醉药物的选择, 使用合适的麻醉药物剂量, 充分发挥其麻醉效果, 并进行安全性和有效

性的综合评估, 以保证动物手术的顺利进行。

对猪进行麻醉时, 通常需要两种或多种麻醉药物的组合才能达到催眠、镇痛和肌肉松弛的临床效果。氯胺酮复合安定药如地西洋对猪具有良好的镇痛效果, 并可产生平稳的麻醉诱导^[3-4]; 但因法规限制, 获得氯胺酮较为困难。舒泰(Zoletil)是盐酸替来他明和盐酸唑拉西洋以1:1(质量比)混合组成, 其作用类似于氯胺酮^[5]。作为一种安全有效的麻醉剂, 舒泰具有

[基金项目] 军队实验动物专项科研课题(SYDW〔2018〕15); 第九〇〇医院杰出青年培育专项(2019Q04)

[作者简介] 薛来恩(1992—), 男, 本科, 助理兽医师, 主要研究方向: 实验动物技术与管理。E-mail: 137992781@qq.com

诱导期短、不良反应小、安全等特点,已广泛用于多种动物的麻醉给药;但是舒泰单独使用时,对猪的镇痛和肌肉松弛效果较差^[6]。陆眠宁(Xylazine)主要成分为盐酸赛拉嗪,是一种新型复方制剂,具有良好的中枢镇痛和肌肉松弛作用,能很好地用于比格犬的麻醉;然而它对猪的麻醉效果不明显,且会抑制中枢神经系统对体温的调节^[7],通常需要与其他药物联合使用。鉴于舒泰和陆眠宁在药效上都有一定的局限性,临床手术中常利用舒泰的安全性和陆眠宁的镇痛效果,将二者联合使用。然而,现有的相关研究中对巴马小型猪麻醉剂量的报告不尽相同,且生理指标报告较少。因此,本文通过参比两种麻醉药物的说明书,在综合考虑安全性的情况下,对32头巴马小型猪应用不同剂量(3.0~7.0 mg/kg)的舒泰和2 mg/kg陆眠宁进行复合麻醉,研究其在腹部手术中的麻醉效果及对生理指标的影响,以期为巴马小型猪在生物医学研究的手术中提供有效、安全的麻醉方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

巴马小型猪32头,雌雄各半,体质量为20~25 kg,购自湖北奥菲生物科技有限公司[SCXK(鄂)2019-0024],实验地点为联勤保障部队第九〇〇医院实验动物中心[SYXK(闽)2018-0005]。实验方案通过联勤保障部队第九〇〇医院实验动物福利伦理委员会审查[2021-016]。实验所用小型猪都检疫合格,身体状况良好,各种生理反射正常。

1.1.2 主要仪器

病人监护仪(型号为IPM10)、动物监护仪(型号为RM400M)均由深圳瑞沃德生命科技有限公司生产;动物手术台(型号为DW-I)由南京嘉玛贸易有限公司生产。

1.1.3 主要药品

硫酸阿托品注射液(0.5 mg/mL)购自湖北新华制药有限公司;舒泰50(每5 mL含125 mg盐酸替来他明和125 mg盐酸唑拉西洋)购自法国维克公司;陆眠宁(每2 mL含0.2 g盐酸赛拉嗪)购自吉林省华牧动物保健品有限公司;尼可刹米注射液(1.5 mL:0.375 g)购自上海禾丰制药有限公司;盐酸肾上腺素注射液(1 mg/mL)购自天津金耀氨基酸有限公司;酮洛芬缓释胶囊(0.1 g/粒)购自山东鲁抗医药集团赛特有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组

实验前,32头巴马小型猪在设施内适应性饲养1周。随机分为4组,每组8只,舒泰剂量分别为3.0~3.9、4.0~4.9、5.0~5.9和6.0~7.0 mg/kg。术前8~12 h小型猪禁食不禁水,以防止在麻醉或苏醒后出现呕吐及呕吐物导致窒息。

1.2.2 麻醉方法

依据两种麻醉药说明书,参考犬的用量,陆眠宁安全范围是1~2 mg/kg,舒泰安全范围为7~25 mg/kg;在此基础上,综合考虑安全性,减少麻醉费用成本,本研究对32头巴马小型猪应用不同剂量(3.0~7.0 mg/kg)的舒泰和2 mg/kg陆眠宁进行复合麻醉。小型猪赶入固定笼称质量,笼内安定10 min以避免任何诱发、应激等因素,平稳后注射阿托品0.05 mg/kg,防止分泌物过多。5~10 min后颈后肌肉注射陆眠宁2 mg/kg和不同剂量舒泰,未能一次诱导成功的,追加初始半量剂量。进入麻醉状态时,将小型猪抬到手术台上仰卧保定,耳缘静脉穿刺,建立静脉通道,以备术中追加麻醉药,以及术中如有躁动不安、影响手术操作时可根据说明书,静脉缓慢注射半量舒泰及肌肉注射半量陆眠宁作为术中维持。

1.2.3 麻醉效果评估

诱导时间是从注射到小型猪进入麻醉状态(出现侧卧、无睫毛反射、皮肤夹捏无反应)的时间间隔。超过10 min未能进入麻醉状态视为诱导麻醉失败,追加初始剂量的半量。维持时间是从完全静止到小型猪第一次尝试将头抬离地面几厘米的时间间隔。苏醒时间是从小型猪第一次尝试将头抬起到能够在没有帮助的情况下站立超过10 s的时间间隔。

1.2.4 生理指标监测

诱导麻醉成功后,监测小型猪的术前各项指标,包括直肠温度(temperature, T)、心率(heart rate, HR)、呼吸频率(respiratory rate, RR)、动脉血氧饱和度(pulse oxygen saturation, SpO₂)、收缩期动脉血压(systolic arterial pressure, SAP)、舒张期动脉血压(diastolic arterial pressure, DAP)。将动物心电图监护仪导联线分别连接于小型猪左、右上肢和左侧下肢体上的电极片,检测HR;使用动物监护仪上的血氧饱和度探头夹住小型猪舌头,检测SpO₂;通过观察动物胸部运动1 min,记录RR;体温计插入肛门检测T;在左侧腹股沟1 cm纵向切开皮肤3 cm,用分离钳暴露股总动脉,插入充有肝素水的导管并固定,导管与三通相连,

末端连接病人监护仪,用有创压力传感器监测动物SAP和DAP^[8]。

1.2.5 麻醉期间急救处理预案及术后镇痛

术中如出现心动过缓,肌内注射阿托品(0.05 mg/kg);呕吐多见于麻醉的前期,此时应将小型猪口朝下,拉出舌头,清理干净呕吐物;如出现呼吸抑制,肌内注射尼可刹米(1 mL);如出现呼吸停止,并迅速插管供氧或人工辅助呼气;如出现心跳停止,立即用盐酸肾上腺素静脉注射,采取心肺复苏等抢救措施;如出现休克、昏迷,则停止麻醉,肾上腺素静脉注射,保持供氧,保温。术后将巴马小型猪转移到观察室,进行保温和补液,连续3 d给予酮洛芬缓释胶囊(0.1 g)用于术后镇痛。

1.3 统计方法

应用SPSS19.0软件进行统计分析。检测数据均用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用LSD-*t*检验法。以 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 麻醉效果

3.0~7.0 mg/kg舒泰复合2 mg/kg陆眠宁诱导成功的巴马小型猪很快进入麻醉状态。但个别小型猪出现呼吸急促,肌内注射尼可刹米1 mL后症状稳定。麻醉后,巴马小型猪的睫毛反射和角膜反射减弱,肌肉完全松弛,皮肤夹捏无反应,保持腹式呼吸为主,术中镇痛、镇静、肌松效果良好。

因为在3.0~3.9 mg/kg舒泰剂量组中有4只小型猪未能一次诱导麻醉成功,因此未将该组的8只小型猪纳入最终结果分析。将能首次诱导成功的4.0~7.0 mg/kg舒泰剂量分为高剂量(6.0~7.0 mg/kg)、中剂量(5.0~5.9 mg/kg)、低剂量(4.0~4.9 mg/kg)3组,比较3组

麻醉剂量下的诱导时间、维持时间和苏醒时间。由表1可知,与低剂量组比较,中剂量组和高剂量组的麻醉诱导时间明显缩短($P<0.05$);随着舒泰剂量加大,麻醉维持时间越长($P<0.05$);3组麻醉剂量的苏醒时间都较短,组间差异无统计学意义($P>0.05$)。上述实验表明,舒泰剂量在4.0~7.0 mg/kg时复合陆眠宁2 mg/kg麻醉基本能保证手术顺利进行。进一步综合考虑实验方案,对比3组麻醉剂量的诱导时间和维持时间,结果发现5.0~5.9 mg/kg和6.0~7.0 mg/kg剂量的舒泰复合2 mg/kg陆眠宁更加适合巴马小型猪麻醉。

表1 三组剂量的舒泰复合2 mg/kg陆眠宁对巴马小型猪麻醉效果的比较

Table 1 Comparison of anesthetic effects of three doses of Zoletil on Bama mini-pigs

($\bar{x}\pm s$, $n=8$)			
组别	诱导时间/ min	维持时间/min	苏醒时间/min
低剂量组 (4.0~4.9 mg/kg)	6.50±1.20	46.88±8.63	37.63±8.16
中剂量组 (5.0~5.9 mg/kg)	4.88±1.36 ^a	79.25±9.69 ^a	35.50±5.45
高剂量组 (6.0~7.0 mg/kg)	3.75±1.16 ^a	99.13±7.14 ^{ab}	34.13±5.30

注:与低剂量组相比,^a $P<0.05$;与中剂量组相比,^b $P<0.05$ 。

2.2 麻醉的安全性

由表2可见,与小型猪正常指标相对比^[9],3个麻醉剂量的舒泰复合陆眠宁麻醉后,巴马小型猪的生理指标都有所变化:中剂量组小型猪的HR、RR、SpO₂、DAP较其他两组更接近正常生理数值;HR、SAP、DAP在3组之间都没有明显差异($P>0.05$);与低剂量组相比,中剂量组的RR明显降低($P<0.05$),高剂量组的T、RR均明显降低($P<0.05$);与中剂量组相比,高剂量组的SpO₂明显下降($P<0.05$)。结果表明肌内

表2 三组剂量的舒泰复合2 mg/kg陆眠宁对巴马小型猪部分生理指标的影响

Table 2 Effects of three doses of Zoletil on physiological indexes of Bama mini-pigs

($\bar{x}\pm s$, $n=8$)				
组别	低剂量组 (4.0~4.9 mg/kg)	中剂量组 (5.0~5.9 mg/kg)	高剂量组 (6.0~7.0 mg/kg)	正常生理体征 ^[9]
HR/(次·min ⁻¹)	71.88±10.84	65.38±10.37	67.50±6.19	55~60
T/°C	37.80±0.21	37.65±0.30	37.43±0.23 ^a	38~40
RR/(次·min ⁻¹)	36.75±3.49	32.13±3.18 ^a	33.13±2.36 ^a	12~18
SpO ₂ /%	83.63±7.30	86.75±7.38	79.25±5.64 ^b	-
SAP/mmHg	128.38±6.37	125.63±7.21	124.63±11.24	144~185
DAP/mmHg	83.63±6.82	86.25±4.80	84.38±9.23	98~120

注:HR为心率,T为直肠温度,RR为呼吸频率,SpO₂为动脉血红蛋白氧饱和度,SAP为收缩期动脉血压,DAP为舒张期动脉血压。与低剂量组相比,^a $P<0.05$;与中剂量组相比,^b $P<0.05$ 。

注射舒泰复合陆眠宁对巴马小型猪的生理指标有所影响,其中5.0~5.9 mg/kg舒泰对巴马小型猪的生理指标影响较小。

3 讨论

巴马小型猪是体型较大的实验动物,通常需要在麻醉状态下进行各项实验操作。而且与兽医临床麻醉不同的是,实验动物麻醉不但要减轻手术中动物的疼痛,还需尽量减少麻醉对实验的干扰,以保证科研数据的稳定性、重复性、科学性。本文借鉴兽医临床麻醉方法,选用舒泰与陆眠宁联合应用进行麻醉,操作简便,安全稳定。

麻醉后巴马小型猪在手术过程中的镇痛、镇静和肌肉松弛效果良好,未出现死亡现象。麻醉的维持时间基本能保证手术顺利进行。在巴马小型猪的麻醉效果上诱导时间和维持时间体现了明显的剂量顺从关系,即每公斤体重使用的舒泰剂量越大,麻醉效果出现所需时间越短,麻醉维持的时间越长。

宋蕴琦等^[10]之前研究表明,长白猪肌内注射舒泰8.0 mg/kg和盐酸赛拉嗪1.0 mg/kg的麻醉效果良好。本实验观察发现,3.0~7.0 mg/kg舒泰联合2 mg/kg陆眠宁(主要成分是盐酸赛拉嗪)麻醉时,对巴马小型猪的麻醉效果有明显的剂量效应,随着舒泰使用剂量的增大,诱导麻醉成功所需时间缩短,维持麻醉时间延长;但舒泰剂量在3.0~3.9 mg/kg时,部分巴马小型猪需二次诱导后才能进入麻醉状态;舒泰剂量在4.0~7.0 mg/kg时,相比4.0~4.9 mg/kg的剂量组,5.0~5.9 mg/kg和6.0~7.0 mg/kg剂量组的诱导时间明显更短,麻醉维持时间更长($P<0.05$)。本研究结果说明,在一定范围内,舒泰剂量越高,联合陆眠宁的麻醉起效更快,麻醉效果更强,这可能是因为舒泰作用于中枢及脊髓有助于增强麻醉效果。本实验中还观察发现,所有小型猪在术后苏醒时间较短,可自主运动,苏醒后小型猪无不良反应。以上结果表明,3.0~3.9 mg/kg舒泰复合2 mg/kg陆眠宁不适合巴马小型猪的诱导麻醉,舒泰剂量在4.0~7.0 mg/kg时复合2 mg/kg陆眠宁麻醉才能基本保证手术顺利进行。进一步综合考虑实验方案,对比3组麻醉剂量的诱导时间和维持时间,发现5.0~5.9 mg/kg和6.0~7.0 mg/kg剂量的舒泰复合2 mg/kg陆眠宁时麻醉效果可满足实验需要。

另外,本研究还发现舒泰复合陆眠宁麻醉时,部分小型猪会出现呼吸急促、呼吸频率加快的现象,但肌内注射尼可刹米后可得到缓解。李雯雯等^[11]测定

巴马小型猪麻醉状态下的常规生理生化指标,用舒泰1.5~1.7 mg/kg联合盐酸赛拉嗪2.2 mg/kg进行麻醉诱导时,术前HR、MAP略低于文献报告^[12]中其他小型猪的正常值。相关研究表明,舒泰和陆眠宁应用于猪的麻醉具有良好的效果,但在生理指标及复合使用的麻醉剂量有所差异^[10-11]。本实验观察发现,4.0~7.0 mg/kg剂量的舒泰联合2 mg/kg陆眠宁麻醉后,小型猪术前的T、HR、RR、SpO₂、SAP和DAP等生理指标均与正常指标相比有所变化,但舒泰5.0~5.9 mg/kg剂量组小型猪的HR、RR、SpO₂、DAP较其他两组更接近正常生理数值;与4.0~4.9 mg/kg的剂量组相比,5.0~7.0 mg/kg剂量组的RR明显降低($P<0.05$),6.0~7.0 mg/kg剂量组的平均体温明显偏低($P<0.05$);而且与5.0~5.9 mg/kg剂量组相比,6.0~7.0 mg/kg剂量组的SpO₂明显下降($P<0.05$)。这可能是因为舒泰高剂量麻醉可导致呼吸抑制,影响血氧饱和度。以上结果表明,用舒泰复合陆眠宁麻醉对巴马小型猪的生理指标会存在一定影响,其中舒泰剂量为5.0~5.9 mg/kg时,巴马小型猪各项生理指标相对稳定,提示该剂量的舒泰与陆眠宁联合麻醉对最终研究结果的影响最小。另外,为提高手术安全性,麻醉过程中应根据实验情况进行气管插管供氧,做好保暖措施,并备好救治药物。

综上所述,相比于舒泰10~15 mg/kg单独使用剂量^[13],舒泰联合陆眠宁麻醉可降低舒泰使用剂量,节约麻醉成本,避免产生不良反应,使舒泰的安全性和陆眠宁的镇痛效果起到了协同互补作用。本实验结果显示选用剂量为5.0~5.9 mg/kg的舒泰复合2 mg/kg陆眠宁用于巴马小型猪手术麻醉,具有良好的麻醉效果,而且麻醉诱导快,维持时间长,镇痛肌松效果强,对生理指标影响相对较小,苏醒时间短且无并发症。因此,在巴马小型猪用于生物医学研究时,5.0~5.9 mg/kg舒泰复合2 mg/kg陆眠宁肌内注射可能是较为有效、安全的麻醉方案。

致谢:温福利老师在论文撰写及动物实验设计方面给予指导和帮助,付云烽老师在动物手术操作上给予协助,衷心感谢!

[利益声明]作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 相磊,刘亚干,赵玉琼,等.全身麻醉对巴马小型猪空腹血糖测定的影响[J].实验动物科学,2018,35(3):70-73. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2018.03.013.
- [2] VODICKA P, SMETANA K, DVORANKOVA B, et al. The miniature pig as an animal model in biomedical research[J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1049: 161-171. DOI: 10.1196/annals.

- 1334.015.
- [3] 杨同涛, 胡魁, 张昊, 等. 三组麻醉药物对小型猪麻醉效果的比较[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(3):58-61. DOI:10.3969/j.issn.0529-6005.2013.03.023.
- [4] 孙同柱, 付小兵, 方利君, 等. 两种麻醉方法对小型猪麻醉效果的比较[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(4):238-239. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2003.04.014.
- [5] KUMAR A, MANN H J, REMMEL R P, et al. Pharmacokinetic study in pigs and *in vitro* metabolic characterization in pig- and human-liver microsomes reveal marked differences in disposition and metabolism of tiletamine and zolazepam (Telazol) [J]. *Xenobiotica*, 2014, 44(4): 379-390. DOI: 10.3109/00498254.2013.833362.
- [6] LU D Z, FAN H G, KUN M, et al. Antagonistic effect of atipamezole, flumazenil and naloxone following anaesthesia with xylazine, tramadol and tiletamine/zolazepam combinations in pigs[J]. *Vet Anaesth Analg*, 2011, 38(4): 301-309. DOI:10.1111/j.1467-2995.2011.00625.x.
- [7] LEE J Y, JEE H C, JEONG S M, et al. Comparison of anaesthetic and cardiorespiratory effects of xylazine or medetomidine in combination with tiletamine/zolazepam in pigs[J]. *Vet Rec*, 2010, 167(7):245-249. DOI:10.1136/vr.c3611.
- [8] MUSK G C, COSTA R S, TUKE J. Doppler blood pressure measurement in pigs during anaesthesia[J]. *Res Vet Sci*, 2014, 97(1):129-131. DOI:10.1016/j.rvsc.2014.04.011.
- [9] 郝光荣. 实验动物学[M]. 2版. 上海: 第二军医大学出版社, 2002.
- [10] 宋蕴琦, 崔宁, 崔昱豪, 等. 噻拉嗪复合舒泰对长白猪的麻醉效果观察[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020(3):120-122. DOI:10.13881/j.cnki.hljxmsy.2019.04.0336.
- [11] 李雯雯, 苏乔, 赵广银, 等. 巴马小型猪麻醉状态下常规生理生化指标的测定[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(8):113-117. DOI:CNKI:SUN:ZSYZ.0.2018-08-039.
- [12] 黄国勇, 秦丹丹, 李静, 等. 使用供体腹主动脉行肝动脉重建猪肝移植术的麻醉管理[J]. 广西医学, 2012, 34 (10):1298-1301. DOI: 10.3969/j.issn.0253-4304.2012.10.007.
- [13] 丁佳丽, 陈璐, 王斌, 等. 丙泊酚或舒泰诱导对小型猪甲状腺手术喉返神经监测信号影响的比较[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(10): 4. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2018.10.054.
- (收稿日期:2021-06-04 修回日期:2021-11-26)
(本文编辑:富群华,张俊彦)

《实验动物与比较医学》出版伦理声明

为加强科研诚信与学术道德建设,树立良好学风和期刊形象,建立和维护公平、公正的学术交流生态环境,《实验动物与比较医学》承诺严格遵守并执行国家有关科研诚信和学术道德的政策与法规。同时,为促进我国实验动物科学与比较医学科研成果的国际交流与认可,本刊参照并遵循国际出版伦理委员会(Committee on Publication Ethics, COPE)和国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE)等国际通行的出版伦理规范。因此,本刊根据目前实际情况,特做以下声明,借此规范作者、同行评议专家、期刊编辑等在投稿、审稿、编辑出版全流程中的行为,并接受学术界和全社会的监督。

1. 所有来稿必须是作者的原创作品,如文中使用先前发表的资料(如图、表格),需要提供相关的版权及许可证明。

2. 本刊坚决抵制第三方代写或代投、抄袭(即剽窃)、造假(包括伪造及篡改)等学术不端行为。一经发现,编辑部立即撤稿,该文所有作者均会被列入黑名单。

3. 本刊不接受重复发表文章(包括不同语种),也不允许作者一稿多投(包括同时或错时)。稿件一旦受理,编辑部将即时处理。若作者有加急需求,可第一时间联系编辑部寻求帮助。

4. 作者投稿前须确认署名及顺序,所有作者均须对该文的科研诚信负责。投稿时应登记所有署名作者的基本信息,并在文末附作者贡献说明及利益冲突声明。

5. 若来稿有过投稿他刊的经历,本刊鼓励作者第一时间如实说明,并提供以往的审稿意见及修改情况(包括补充论据或解释说明)。这样的诚信行为有利于该稿在本刊的审稿速度和录用概率。

6. 本刊实行严格的三审制度,所有来稿均需通过编辑部初审、同行评议专家外审和主编定稿会终审共3个审稿环节,才决定录用与否。

7. 本刊审稿专家和编辑均需公正、尽责对待所有来稿,对学术不端行为不姑息、不偏袒,努力维护期刊学术声誉,并在文章未发表前不随意公开研究内容,以保障作者的首发权。

8. 所有来稿中若涉及学术不端行为(《CY/T 174—2019:学术出版规范 期刊学术不端行为界定》),均须由作者本人负责。本刊对已发现的学术不端作者,保留通报其所在单位及同领域期刊社的权利。

《实验动物与比较医学》编辑部

不同剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪对 C57BL/6J 小鼠的麻醉效果观察

王成稷¹, 柴青², 龚慧¹, 王珏¹, 万颖寒¹, 顾正页¹, 暴旭³, 沈如凌¹

(1. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 2. 青岛市疾病预防控制中心, 青岛 266011; 3. 苏州坤宸生物科技有限公司, 苏州 215031)

[摘要] **目的** 使用不同剂量的舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉 C57BL/6J 小鼠, 观察小鼠在不同麻醉剂量下的麻醉相关时间, 为各类小鼠手术及相关实验设计提供参考。**方法** 100 只 C57BL/6J 小鼠 (雌雄各半) 随机分成 5 组, 每组 20 只 (雌雄各半)。4 个给药组小鼠分别按照舒泰 55 mg/kg+盐酸赛拉嗪 13.75 mg/kg、舒泰 65 mg/kg+盐酸赛拉嗪 16.25 mg/kg、舒泰 75 mg/kg+盐酸赛拉嗪 18.75 mg/kg、舒泰 85 mg/kg+盐酸赛拉嗪 21.25 mg/kg 的剂量进行腹腔注射; 小鼠翻正反射消失后, 于双眼各滴注新乐敦滴眼液 1 滴 (约 20 μ L), 放置小鼠于保温垫上。对照组小鼠腹腔注射 200 μ L 的 0.9% 氯化钠溶液。观察、记录并比较各组小鼠的麻醉诱导时间、麻醉维持时间、麻醉恢复时间。小鼠麻醉苏醒后饲养 1 d, 取血清, 采用日立 7080 全自动生化分析仪测定肝肾功能指标: 谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐。**结果** 舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉 C57BL/6J 小鼠的成功率为 100%。当舒泰麻醉剂量在 55 ~ 75 mg/kg 时能迅速且安全地诱导小鼠麻醉, 麻醉效果良好。麻醉维持时间与舒泰注射剂量成正比 (雄鼠 $r^2=0.827$, 雌鼠 $r^2=0.841$, P 值均 < 0.05), 麻醉诱导时间与注射剂量成反比 (雄鼠 $r^2=0.432$, 雌鼠 $r^2=0.410$, P 值均 < 0.05)。麻醉苏醒后, 各组小鼠的肝肾功能指标与对照组相比无明显差异 ($P > 0.05$)。**结论** 使用 55 ~ 75 mg/kg 舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉 C57BL/6J 小鼠可得到较好的麻醉效果且安全, 并且可通过调整麻醉药剂量控制麻醉时间, 提示这是一种稳定可靠的麻醉方法。

[关键词] 舒泰; 盐酸赛拉嗪; 麻醉; 小鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0031-05

Anesthetic Effects of Different Doses of Zoletil Combined with Serazine Hydrochloride on C57BL/6J Mice

WANG Chengji^{1*}, CHAI Qing^{2*}, GONG Hui¹, WANG Jue¹, WAN Yinghan¹, GU Zhengye¹, BAO Xu³, SHEN Ruling¹

(1. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China; 2. Qingdao Municipal Center for Disease Prevention and Control, Qingdao 266011, China; 3. Suzhou Kunchen Biotechnology Co., Ltd., Suzhou 200231, China)

Correspondence to: SHEN Ruling, E-mail: shenruling@slarc.org.cn

[ABSTRACT] **Objective** To observe the duration of anesthesia in C57BL/6J mice anesthetized using different doses of Zoletil combined with serazine hydrochloride to provide an effective reference for all types of mouse surgery and related experimental design. **Methods** One hundred C57BL/6J mice (half male and female) were randomly divided into five groups, with 20 mice (half male and female) in each group. The mice in the four groups were intraperitoneally injected with 55 mg/kg Zoletil and 13.75 mg/kg serazine hydrochloride, 65 mg/kg Zoletil and 16.25 mg/kg serazine hydrochloride, 75 mg/kg Zoletil and 18.75 mg/kg serazine hydrochloride, or 85 mg/kg Zoletil and 21.25 mg/kg serazine hydrochloride, respectively. After the righting reflex stopped, one drop (about 20 μ L) was injected into each eye, and the mice were placed on a heat preservation pad. Mice in the control group were intraperitoneally injected with 200 μ L normal saline. Differences in the anesthesia induction time, maintenance time, and awakening time were observed and

[作者简介] 王成稷(1989—), 男, 实验师, 主要从事动物实验及解剖学研究。E-mail: wangchengji@slarc.org.cn;

柴青(1984—), 女, 主管技师, 研究方向: 实验动物及流行病学。E-mail: cqhhh110@126.com。*为共同第一作者。

[通信作者] 沈如凌(1981—), 女, 副研究员, 研究方向: 模式生物。E-mail: shenruling@slarc.org.cn

compared. The mice were fed for one day after anesthesia; serum was collected, and liver and kidney function indexes such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and creatinine (CREA) were determined using Hitachi 7080 automatic biochemical analyzer. **Results** The success rate of anesthesia in C57BL/6J mice treated with Zoletil combined with serazine hydrochloride was 100%. When the anesthetic dose was 55-75 mg/kg, the anesthesia was induced quickly and safely, and the anesthetic effect was good. The duration of anesthesia was proportional to the injection dose of Zoletil ($r^2 = 0.827$ in male mice, $r^2 = 0.841$ in female mice, both $P < 0.01$), and the induction time was inversely proportional to the injection dose ($r^2 = 0.432$ in male mice, $r^2 = 0.410$ in female mice, both $P < 0.05$). However, there was no significant difference in liver and kidney function between the groups and the control group ($P > 0.05$).

Conclusion Anesthetizing C57BL/6J mice with Zoletil combined with serazine hydrochloride is a reliable and stable method, and the duration of anesthesia can be controlled by adjusting the dosage.

[Key words] Zoletil; Serazine hydrochloride; Anesthesia; Mice

舒泰是一种复合麻醉剂, 被广泛应用于宠物及野生动物的麻醉, 如: 犬、猫、穿山甲、大食蚁兽、野猪、非人灵长类动物等^[1-7]。但在小鼠麻醉中, 单用舒泰的麻醉效果较差, 使用剂量低于 75 mg/kg 时小鼠麻醉深度不够, 使用剂量大于 75 mg/kg 时极易造成小鼠死亡; 而使用镇静剂右美托咪定联合舒泰麻醉小鼠可得到较好的麻醉效果^[8]。然而右美托咪定价格比较昂贵, 麻醉成本较高。另外, 同为镇静剂的盐酸赛拉嗪或盐酸氯丙嗪等常与舒泰联用, 应用于梅花鹿、马鹿、旋角羚、斑马和猫等动物的麻醉^[9-11], 可有效减少麻醉药的用量, 扩大安全范围^[12-13]。本研究团队尝试使用不同剂量的舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉 C57BL/6J 小鼠, 观察小鼠在不同麻醉剂量下的麻醉时间, 以期各类小鼠手术及相关实验设计提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠 100 只, 雌雄各半, 7~8 周龄, 体质量 (25 ± 3) g, 购自上海南方模式生物科技股份有限公司 [SCXK (沪) 2017-0010], 质量合格证编号 20170010016601。小鼠饲养于上海实验动物研究中心屏障设施 [SYXK (沪) 2019-0003]。所有实验操作均经上海实验动物研究中心实验动物管理和使用委员会审批通过 (IACUC 编号 200511005)。

1.2 主要试剂和仪器

舒泰 50 (即注射用盐酸替来他明盐酸唑拉西洋) 购自法国维克有限公司 (批号 7LR9A); 盐酸赛拉嗪注射液购自吉林省华牧动物保健品有限公司 (批号 191019); 新乐敦滴眼液购自曼秀雷敦 (中国) 药业有限公司 (批号 19J061); 生理盐水 (即 0.9% 氯化钠溶液) 购自江西科伦药业有限公司 (批号 C8111301);

加热垫购自余姚高上环保科技有限公司 (型号 DK540270-22X-NZD); 全自动生化分析仪购自日本日立公司 (型号 7080)。

1.3 动物分组及麻醉步骤

100 只 C57BL/6J 小鼠雌雄各半, 随机分成 5 组, 每组 20 只且雌雄各半。根据参考文献[8]、预实验结果及供应商提供的参考剂量, 选取舒泰剂量范围为 55~85 mg/kg, 盐酸赛拉嗪剂量 < 30 mg/kg。首先使用生理盐水将 50 mg/mL 的舒泰和 50 mg/mL 的盐酸赛拉嗪分别稀释至 5 mg/mL, 并将舒泰和盐酸赛拉嗪以体积比为 4:1 混合待用。然后每只小鼠注射前称体质量, 分 4 组给药, 即分别按照舒泰 55 mg/kg、65 mg/kg、75 mg/kg 和 85 mg/kg (相应地, 盐酸赛拉嗪 13.75 mg/kg、16.25 mg/kg、18.75 mg/kg 和 21.25 mg/kg) 的用药剂量对小鼠进行腹腔注射。待小鼠翻正反射消失后, 于小鼠双眼各滴注新乐敦滴眼液 1 滴 (约 20 μ L) 以保护角膜, 放置于保温垫上, 观察记录小鼠麻醉诱导时间、麻醉维持时间、麻醉恢复时间。对照组小鼠腹腔注射 200 μ L 生理盐水。

1.4 观测指标

麻醉诱导时间指药物注射入小鼠体内到小鼠倒下并丧失痛觉的时间。麻醉维持时间指小鼠痛觉丧失到小鼠痛觉恢复的时间。麻醉恢复时间指小鼠痛觉恢复到小鼠自行翻正的时间。总麻醉时间 = 麻醉诱导时间 + 麻醉维持时间 + 麻醉恢复时间。痛觉丧失的判定标准: 小鼠全身肌肉松弛, 呼吸平顺, 使用食指和拇指按压小鼠后肢足趾末端, 小鼠无疼痛反应。痛觉恢复的判定标准: 小鼠呼吸速度加快, 使用食指和拇指按压小鼠后肢足趾末端, 小鼠有疼痛反应。

1.5 肝肾功能指标检测

小鼠麻醉苏醒后饲养 1 d 后, 经眼眶静脉窦采血

500 μL , 4 500 r/min 离心 10 min 后取血清, 采用日立 7080 全自动生化分析仪测定肝肾功能指标, 包括谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐含量。

1.6 统计学方法

应用 GraphPad Prism 6 软件进行数据分析, 计量结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用两样本均数的 t 检验, 剂量与麻醉时间的关系采用 Pearson 相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 麻醉相关时间

舒泰和盐酸赛拉嗪复合麻醉各组小鼠均麻醉成功 (80/80)。舒泰注射剂量为 85 mg/kg 时, 有 40% 的小鼠 (8/20) 在麻醉恢复期出现气管分泌物增多、呼吸痰鸣音的现象, 共死亡 3 只小鼠 (2 雄 1 雌), 死亡率 15%。

提示当舒泰麻醉剂量在 55~75 mg/kg 时能安全诱导小鼠麻醉, 麻醉效果良好。

各剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪进行复合麻醉的诱导时间、维持时间、恢复时间和麻醉总时间数据见表 1。随着舒泰剂量增加, 麻醉维持时间、麻醉恢复时间和总麻醉时间均延长, 而麻醉诱导时间缩短; 统计学分析结果显示, 各剂量组间的麻醉维持时间差异有统计学意义 ($P<0.01$), 麻醉维持时间与注射剂量成正比 (雄鼠 $r^2=0.827$, 雌鼠 $r^2=0.841$, P 值均 <0.05), 而麻醉诱导时间与注射剂量成反比 (雄鼠 $r^2=0.432$, 雌鼠 $r^2=0.410$, P 值均 $P<0.05$)。

2.2 对肝肾功能的影响

用不同剂量的舒泰和盐酸赛拉嗪复合麻醉, 苏醒后各剂量组小鼠的肝肾功能指标与对照组相比, 无显著差异 ($P>0.05$, 表 2)。

表1 不同剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉时各组小鼠的麻醉时间比较

Table 1 Comparison of the duration of anesthesia in each group under different anesthetic concentrations

		(t/min, $\bar{x}\pm s$, n=10)			
项目	性别	各剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪			
		55 mg/kg	65 mg/kg	75 mg/kg	85 mg/kg
麻醉诱导时间	♂	14.32±6.16	11.55±3.30	9.41±1.99*	5.75±1.86**
	♀	14.26±2.85	12.6±2.29	11.07±2.82*	8.33±2.86*
麻醉维持时间	♂	12.03±3.19	31.76±3.78** $\Delta\Delta$	39.75±4.34** $\Delta\Delta$	45.35±5.64**
	♀	11.11±3.56	23.99±5.13** $\Delta\Delta\Delta$	39.67±8.28** $\Delta\Delta$	46.67±5.68** $\Delta\Delta$
麻醉恢复时间	♂	19.26±8.64	22.14±5.86	39.11±7.88**	45.95±27.00** ^a
	♀	23.02±4.77	28.62±5.68**	35.15±11.12**	46.27±20.24** ^b
总麻醉时间	♂	40.25±14.58	63.11±6.55**	86.83±8.93**	91.33±37.74** ^a
	♀	46.89±6.93	63.59±7.99**	84.46±11.31**	103.84±16.41** ^b

注: 与低剂量组 (55 mg/kg 组) 比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与前一个剂量组之间比较, $\Delta\Delta P<0.01$; 雌 (♀) 雄 (♂) 鼠之间比较, $\Delta\Delta\Delta P<0.01$ 。85 mg/kg 剂量组麻醉后有 3 只小鼠死亡, 2 雄^(a)1 雌^(b)。

表2 不同剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉苏醒后各组小鼠的肝肾功能指标比较

Table2 Comparison of liver and kidney function indexes among different groups under different anesthetic concentrations

		(x±s, n=10)				
检测项目	性别	对照组	各剂量舒泰联合盐酸赛拉嗪			
			55 mg/kg	65 mg/kg	75 mg/kg	85 mg/kg
谷丙转氨酶 z/(U·L ⁻¹)	♂	20.93±3.75	19.78±1.53	20.95±1.95	20.80±2.16	20.04±2.05
	♀	19.74±1.50	20.26±1.46	21.34±1.43	20.44±1.63	20.64±1.76
谷草转氨酶 z/(U·L ⁻¹)	♂	79.25±12.77	80.00±6.23	86.59±3.76	80.15±7.28	80.65±6.49
	♀	83.61±10.31	80.69±5.93	78.70±8.06	82.36±6.24	79.04±4.65
肌酐 c/(μmol·L ⁻¹)	♂	9.83±0.93	10.16±0.55	10.18±0.74	10.13±0.74	10.49±0.62
	♀	9.62±1.17	9.55±1.05	9.88±0.70	9.68±0.49	10.17±0.64

注: 各剂量组与对照组之间比较, $P>0.05$ 。85 mg/kg 剂量组麻醉后有 3 只小鼠死亡, 2 雄 1 雌。

3 讨论

在动物手术实验中, 麻醉是最基础的一个操作, 但麻醉的好坏会直接影响手术结果。目前较为常用的

麻醉方式主要有吸入麻醉和注射麻醉。吸入麻醉效果较好, 但使用时需要麻醉机配合, 麻醉维持前需要使用诱导箱进行诱导, 操作较复杂, 同时使用成本较高。相比吸入麻醉, 注射麻醉操作简便, 使用成本低。目

前常用的麻醉剂有戊巴比妥钠、三溴乙醇和异氟烷等。戊巴比妥属于二类精神药物,其购买受到严格管控;三溴乙醇存在严重的不良反应,可引起腹腔内壁和腹部器官表面坏死及炎性改变^[14];异氟烷虽然麻醉效果好,但需要配合麻醉机使用,从而增加了实验成本。而舒泰可以很好地替代这些常用的麻醉剂。

舒泰是一种分离型麻醉剂,其主要成分为替来他明和唑拉西泮。其中,替来他明是一种麻醉剂,其药理作用类似氯胺酮,主要抑制丘脑和新皮质系统,可选择性地阻断痛觉冲动传导,使痛觉消失。舒泰具有诱导期迅速而平稳、不良反应小、止痛效果强等特点^[16]。舒泰麻醉各类动物的剂量分别为:灵长类动物4~6 mg/kg,牛科动物3.5~33 mg/kg,灵猫科动物2.6~6 mg/kg^[17]。相较于其他动物,舒泰麻醉小鼠需要的剂量较高,一般为50~75 mg/kg;并且在这个剂量范围内,小鼠麻醉深度不够,四肢会无意识地划动;而使用剂量超过75 mg/kg时,极易引起小鼠死亡^[8]。这一点在本研究中得到了印证:当舒泰麻醉剂量增加至85 mg/kg时,小鼠会出现气管分泌物增多,呼吸出现痰鸣音的现象,极易造成小鼠死亡;而舒泰麻醉剂量在55~75 mg/kg时能迅速且安全地诱导小鼠麻醉,麻醉效果良好。另外,在麻醉过程中,舒泰对动物体温具有较强的降低作用^[18]。故本实验在小鼠倒地后立即将其放置于保温垫上,可有效保持其正常体温,减轻动物因体温下降而导致的各类并发症发生^[15]。

在舒泰麻醉时联合盐酸赛拉嗪可有效提高麻醉质量。邹芦等^[8]曾使用替来他明/唑拉西泮(舒泰50)联合右美托咪定对BALB/c小鼠进行麻醉时,得到了较好的麻醉效果;需要说明的是,虽然其麻醉维持时间较长(达47~92 min),但其麻醉恢复时间也很长(82~130 min),需注射阿替美唑来缩短动物的麻醉恢复时间,操作较为复杂。相比而言,本研究的麻醉维持时间较短,在舒泰使用剂量为75 mg/kg时,麻醉持续时间约为31~48 min,但这足以覆盖大部分的动物手术所需要的时间。同时,本研究中使用的麻醉方法恢复时间短,无需再次注射拮抗剂来缩短麻醉恢复时间,操作更为简便。而且本研究结果表明,在盐酸赛拉嗪注射剂量不变的情况下,舒泰的麻醉维持时间与舒泰注射剂量成正比,故提示在实验动物手术中可根据实验所需时间的长短选择相应的麻醉剂量,这样可以有效减少麻醉剂的用量,缩短小鼠复苏时间,提高实验效率,节约实验成本。

本实验通过测定小鼠血清中谷丙转氨酶、谷草转

氨酶活性来评价舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉对小鼠肝功能的影响。结果显示麻醉苏醒后1 d,实验组小鼠的谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性均与对照组相比无明显差异,证明其肝脏功能良好。同时对小鼠血清中肌酐水平进行测定,结果显示麻醉苏醒后1 d,实验组与对照组之间小鼠血清中肌酐含量无明显差异,说明舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉对小鼠的肾功能也无明显影响。可见舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉是一种比较安全的麻醉方法。

综上所述,使用55~75 mg/kg剂量的舒泰联合盐酸赛拉嗪麻醉7~8周龄的C57BL/6J小鼠,可得到较好的麻醉效果且安全,并且通过调整麻醉剂量可控制麻醉时间,提示这是一种稳定可靠的麻醉方法。

【作者贡献】

王成稷:设计实验,实施研究,采集数据并分析,撰写文章;
柴青:设计实验,采集并分析数据,文章内容补充与整理;
龚慧、王珏、万颖寒和顾正页:实施研究,采集数据;
暴旭:实验指导,技术支持;沈如凌:实验指导,文章内容补充与整理。

【利益声明】所有作者均声明本文不存在利益冲突。

【参考文献】

- [1] 徐春忠,段俊堂,姜传坤,等.舒泰对大食蚁兽麻醉效果的初步观察[J].野生动物,2013,34(1):14-15,56. DOI:10.19711/j.cnki.issn2310-1490.2013.01.005.
- [2] 孙景元,黄海军,刘建勋.舒泰对红猩猩麻醉效果的初步观察[J].畜牧与兽医,2016,48(6):157-158. DOI:CNKI:SUN:SYTX.0.2017-06-009
- [3] 李林,卢德章,王华,等.舒泰复合赛拉嗪和强痛灵麻醉猫的效果观察[J].中国兽医杂志,2011,47(1):64-66. DOI:10.3969/j.issn.0529-6005.2011.01.029.
- [4] 陈维刚,牛李丽,邓家波,等.舒泰麻醉剂对豚鹿的麻醉效果观察[J].动物医学进展,2014,35(2):127-129. DOI:10.16437/j.cnki.1007-5038.2014.02.026.
- [5] 余子浩.食蟹猴静脉复合麻醉探究[D].上海:上海交通大学,2017.
- [6] 何洪荣,许天赐.舒泰麻醉老虎之不良反应二例[J].野生动物,2011,32(1):34-35. DOI:10.3969/j.issn.1000-0127.2011.01.011.
- [7] 陈新生,冯永其,朱洪军.M99、舒泰和陆眠灵对野猪麻醉效果的初步观察[J].上海畜牧兽医通讯,2017(6):27-28,31. DOI:10.14170/j.cnki.cn31-1278/s.2017.06.009.
- [8] 邹芦,戴天娥,卢晓,等.替来他明/唑拉西泮联合右美托咪定对BALB/c小鼠麻醉效果观察[J].实验动物与比较医学,2019,39(4):310-313. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2019.04.010.
- [9] 应志豪,王才益,黄淑芳,等.盐酸赛拉嗪和盐酸氯丙嗪复合麻醉在野生动物中的应用[J].中国畜禽种业,2016,12(8):39-41. DOI:10.3969/j.issn.1673-4556.2016.08.027.
- [10] 简东启,卢德章,姜胜,等.舒泰复合赛拉嗪和强痛灵麻醉猫手术验证试验[J].中国兽医杂志,2012,48(6):74-75. DOI:10.3969/j.issn.0529-6005.2012.06.028.

- [11] 李林, 卢德章, 王华, 等. 舒泰复合赛拉嗪和强痛灵麻醉猫的效果观察[J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(1): 64-66. DOI: 10.3969/j.issn.0529-6005.2011.01.029.
- [12] 刘焕奇, 侯振中, 王洪斌. 动物复合麻醉的研究进展[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(3): 309-312. DOI: 10.16303/j.cnki.1005-4545.2003.03.042.
- [13] 王丰好, 王伟涛. 小动物复合麻醉的研究进展[J]. 中国动物检疫, 2010, 27(8): 69-71. DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2010.08.037.
- [14] ZELLER W, MEIER G, BÜRKE K, et al. Adverse effects of tribromoethanol as used in the production of transgenic mice [J]. Lab Anim, 1998, 32(4): 407-413. DOI: 10.1258/002367798780599811.
- [15] 严国锋, 张健, 周勇, 等. 保温措施对小鼠麻醉效果的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(5): 341-342. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2008.05.015.
- [16] BELANT J L. Field immobilization of raccoons (*Procyon lotor*) with telazol and xylazine[J]. J Wildl Dis, 2004, 40(4): 787-790. DOI: 10.7589/0090-3558-40.4.787.
- [17] 郭优勤, 郭锐, 魏桂林, 等. 浅谈舒泰麻醉药在动物临床麻醉中的应用[J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(1): 77-78. DOI: 10.3969/j.issn.1673-9523.2012.01.063.
- [18] 段俊堂, 徐春忠, 吴昆, 等. 不同剂量的舒泰对猕猴麻醉效果的观察[J]. 畜牧与兽医, 2012(s2): 147-151. DOI: CNKI: SUN: XMY.0.2012-S2-078.
- (收稿日期: 2021-03-23 修回日期: 2021-12-08)
(本文编辑: 富群华, 张俊彦)

2021年版 ICMJE 推荐规范的更新内容

2021年12月, 国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE)发布了《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》(Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals)更新版, 简称“2021年版 ICMJE 推荐规范”。现将主要的更新内容摘译如下。正式的英文版本见 www.icmje.org。若需引用, 请用英文官方版本。

III.D.3 预印本

将研究工作作为预印本发表将影响期刊对该稿件的兴趣及同行评议和出版的优先级。期刊应在其作者投稿须知中明确表述与预印本发表及引用相关的政策。作者应在将稿件发布到预印平台前, 了解其期望投稿期刊的相关政策。

III.D.3.a 选择预印平台

生物医学领域的预印平台越来越多。在同行评议之前传播科学发现既有优势也有劣势。为了最大化潜在的优势并最小化潜在的危害, 作者意将未经同行评议的工作在预印平台公开, 应选择满足以下特征的预印平台: (1) 明确说明预印本是未经同行评议的工作; (2) 要求作者披露利益关系; (3) 要求作者注明资助来源; (4) 有明确的流程指导预印本文档使用者就已发布预印本的问题通知存档管理员, 为此, 最好有公开评论的功能; (5) 维护发布后撤回的预印本文元数据, 并发布撤回通知, 告知预印本被撤回的时间和原因; (6) 当预印本论文随后在同行评议期刊上发表时, 具有让作者加以说明的机制。

III.D.3.b 将预印平台上的稿件提交同行评议期刊

提交的稿件若已在预印平台发布, 那么无论是在提交稿件之前还是在同行评议过程中提交预印平台, 作者均应告知期刊, 并提供预印平台的链接。在稿件正文或引言中指出该稿件已有预印本以及审稿人如何获得预印本, 这都是有帮助的。此外, 作者(而非期刊编辑)应负责确认预印本可修改, 以指示读者阅读后续版本, 包括正式发表的论文。作者不应在预印平台发布已发表的论文, 也不应发布在同行评议过程中基于期刊反馈作出修订的非最终版本。

III.D.3.c 在提交的稿件中引用预印本

在投稿或即将发表的论文中引用预印本时, 应明确表明该参考文献是预印本。当预印本论文已经随后发表于同行评议期刊, 则作者应尽量引用随后发表的论文, 而不是预印本论文。期刊应在参考文献列表的引文信息后加上“预印本”一词, 并考虑在正文中注明被引用的文章是预印本。如果预印平台发布了 DOI, 引文应包括该预印本链接及 DOI。作者应谨慎引用那些在预印平台发布但后期并未在同行评议期刊上发表的预印本论文, 但关注的时间间隔会因文章主题及引用的具体原因而有所不同。

(张俊彦、于笑天、汪源, 摘译)

国产猪小肠黏膜下层脱细胞基质用于兔硬脑膜修复的效果及安全性

孙立旦^{1,2*}, 杨飞霞^{2*}, 张迪², 陈泽良¹, 张志慧², 李英俊², 史利军³

(1. 沈阳农业大学动物科学与医学学院, 沈阳 110866; 2. 北京通和立泰生物科技有限公司, 北京 102609; 3. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的** 以新西兰白兔构建硬脑膜缺损模型, 通过观察使用国产猪小肠黏膜下层脱细胞基质补片后动物的生理状态、临床表现以及病理组织学改变, 评价可降解补片修复硬脑膜缺损的有效性和安全性。**方法** 用48只新西兰白兔制作硬脑膜缺损模型, 并随机分为试验组和对照组, 每组24只, 分别植入国产的猪小肠黏膜下层脱细胞基质补片(供试品)和国外市售的生物硬脑膜修补片(对照品), 然后观察术后两组动物的基本情况。植入术后7 d、30 d、60 d、90 d共4个时间点分别检测兔血液学及生化指标变化, 然后安乐死动物, 解剖观察硬脑膜修复情况, 并取硬脑膜创伤组织进行病理组织学分析。实验期间, 对所有动物进行兽医临床观察。**结果** 试验组和对照品组兔均能在术后30 d硬脑膜外口愈合, 两组动物临床行为学观察无明显异常, 存活率也无差异。此外, 植入术后各时间节点的兔血液学及生化指标均无明显变化($P > 0.05$), 且解剖动物后观察证实两组间硬脑膜修复过程无明显差别, 病理组织学检查也未见感染性炎症反应。**结论** 用猪小肠黏膜下层脱细胞基质修复兔硬脑膜, 与市售材料相比, 具有类似的硬脑膜修复疗效与防脑脊液渗漏效果, 证明了其安全性和有效性。

[关键词] 猪小肠黏膜下层; 脱细胞基质; 硬脑膜; 兔模型

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0036-06

Effectiveness and Safety of a Domestic Porcine Small Intestinal Submucosa Acellular Matrix in Rabbit Dura Mater Repairing

SUN Lidan^{1,2*}, YANG Feixia^{2*}, ZHANG Di², CHEN Zeliang¹, ZHANG Zhihui², LI Yingjun², SHI Lijun³

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Beijing Tonghe Litai Biotechnology Co., Ltd., Beijing 102609, China; 3. Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Correspondence to: LI Yingjun, E-mail: 260143535@qq.com; SHI Lijun, E-mail: shilijun@caas.cn

[ABSTRACT] **Objective** Using New Zealand white rabbits as an animal model, the effectiveness and safety of a domestic porcine small intestinal submucosa (SIS) acellular matrix in repairing rabbit dura mater defects were evaluated by observing the physiological state, clinical manifestations, and pathological changes. **Methods** Forty-eight New Zealand white rabbits were randomly divided into a trial group ($n=24$) and a control group ($n=24$). The domestic SIS and commercially available materials (control) were implanted by surgery. The animals were sacrificed at 7, 30, 60, and 90 days after surgery for anatomical observation and histopathological analysis. All the animals were clinically observed during the study. **Results** Both SIS materials were able to heal the dura mater 30 days after surgery. There were no obvious clinical abnormalities or significant differences in animal survival rates between the two groups. The morphological changes showing tissue reconstruction were similar at multiple time points, and no infectious inflammatory responses were observed following pathological histological examination in either group. **Conclusion** Under the conditions of this trial, the repairing effect of the tested domestic SIS was

[基金项目] 北京市重大关键任务科技支撑课题: 医疗器械研发与一致性评价公共服务平台(Z191100005619015)

[作者简介] 孙立旦(1991—), 女, 博士研究生, 研究方向: 医疗器械安全性评价。E-mail: sunlidan0399@163.com

杨飞霞(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 实验动物学。E-mail: bjthst@163.com。*为共同第一作者。

[通信作者] 李英俊(1974—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 病理学与病理生理学。E-mail: 260143535@qq.com

史利军(1975—), 男, 博士, 高级兽医师, 研究方向: 实验动物学及预防兽医学。E-mail: shilijun@caas.cn

similar to that observed in the control group, demonstrating that this type of SIS is an ideal material for dura mater repair.

[Key words] Porcine small intestinal submucosa; Acellular matrix; Dura mater; Rabbit model

猪小肠黏膜下层脱细胞基质补片是采用猪小肠黏膜下层组织为原料, 经过病毒灭活、脱细胞、成型、冻干等工艺制备的天然衍生生物材料, 是一种非交联型动物源性细胞外基质材料^[1]。大量临床和基础研究显示, 小肠黏膜下层含有胶原蛋白、弹性蛋白、黏多糖、蛋白多糖和生长因子, 在损伤愈合中起着重要作用, 可显著治愈难以愈合或慢性伤口^[2]。小肠黏膜下层脱细胞基质材料具有天然特有的细胞外基质结构和组成, 能够主动诱导组织再生, 并具有良好的生物相容性、生物力学强度和低免疫原性, 在体内可完全降解, 有良好的抗感染能力, 可用于多种软组织缺损的修复。

目前, 非交联型小肠黏膜下层脱细胞基质补片材料产品已广泛用于烧伤、慢性伤口、肛瘘、腹壁疝修复、硬脑膜修复等临床领域^[3], 但是脱细胞不彻底会造成免疫排斥反应的发生, 不同厂家生产的补片在工艺和材料成分上存在一定差异, 故需要通过动物试验来验证和评价。本研究采用新西兰白兔模型, 通过前瞻性随机对照动物实验评价国产猪小肠黏膜下层脱细胞基质材料在硬脑膜修复中的安全性和有效性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

48只普通级新西兰白兔, 体质量 (2.5 ± 0.25) kg, 购自北京隆安实验动物养殖中心[SCXK(京)2019-0006]。动物饲养于北京通和立泰生物科技有限公司[SYXK(京)2019-0016], 用标准化兔笼单笼饲养, 每只每天分两次饲喂其体质量5%的饲料(北京科奥协力饲料有限公司生产), 自由饮水。所有动物实验操作均符合北京通和立泰生物科技有限公司动物实验伦理审查委员会审批要求(IACUC 2019021)。

1.1.2 主要材料与试剂

供试品名称为脱细胞猪小肠黏膜下层基质(供试品号为AN2019021), 为北京博辉瑞进生物科技有限公司赠送, 批号为20181202, 规格为7 cm×10 cm。对照

品名称为生物硬脑膜修补片购自美国Cook Biotech Incorporated公司, 批号为LB838536, 规格为4 cm×7 cm。3%戊巴比妥钠购自美国Sigma公司(批号P3761, 规格25 g, CAS编号57-33-0); 陆眠宁Ⅱ购自吉林省华牧动物保健品有限公司(批号P20150402); 氯化钾购自黑龙江省北安市飞龙动物药厂(批号20181208); 氨苄西林(批号180701)、庆大霉素(批号180605)和青霉素(批号180401)均购自华北制药集团动物保健品有限责任公司; 苏木精染液(批号ZL-I9610)购自北京中衫金桥生物技术有限公司, 伊红染液(水溶)(批号71014544)购自中国国药集团有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与研究节点

48只新西兰白兔, 随机分成2组, 每组24只, 分设供试品(脱细胞猪小肠黏膜下层基质)试验组和对照品(生物硬脑膜修补片)对照组。分组后每只动物指定一个单一的动物号, 动物及笼卡上标明动物号; 并且用不同颜色笼卡进行组别区分, 并注明实验编号、供试品名称、剂量、组别、性别、动物数等指标。研究设4个时间节点, 分别为植入术后7 d、30 d、60 d、90 d, 每组每个时间点6只动物。

1.2.2 动物术前麻醉

动物术前12 h禁食但不禁水。动物称体质量后, 先用3%戊巴比妥钠以0.5 mL/kg剂量静脉注射, 进行诱导麻醉。3 min后静脉注射陆眠宁Ⅱ, 剂量为0.1 mL/kg。手术过程中视动物麻醉深度, 多次追加首次剂量1/4的陆眠宁Ⅱ。术前于心脏采血2 mL, 用于血细胞五分类分析(仪器购自深圳市普康电子有限公司, PE7600)和血清生化分析(仪器购自珠海森龙生物科技有限公司, SL300B)。术前一次性肌内注射氨苄西林 2×10^5 U和庆大霉素 4×10^4 U以抗感染。

1.2.3 补片植入

实验方法参照文献[4-7], 并根据临床实际情况制定。兔头固定于头架上, 严格执行备皮消毒等无菌准备后, 于颅顶正中处取纵行切口, 长约5 cm。依次切开皮肤及皮下组织, 钳夹止血; 用无菌记号笔在颅

顶正中画一切口约2 cm的正方形;然后用超声骨刀沿切口外缘切开颅骨,尽可能保留颅骨完整;取下颅骨骨窗,充分暴露硬脑膜;用脑膜剪在骨窗内剪出1.0 cm×1.0 cm大小的圆形硬脑膜缺损,操作时切勿损伤脑组织。将试验组或对照组硬脑膜补片修剪为相应形状,贴附于脑表面,硬脑膜补片与缺损处边缘重叠约0.3 cm,用医用组织胶(购自北京康派特医疗器械有限公司)固定。植入完成后将颅骨骨窗放回原位固定,缝合皮肤及皮下组织,纱布包扎伤口。手术结束后普通饮食饲养,未给予止痛药物;术后1~3 d,肌肉注射青霉素 20×10^5 U/次,1次/d,以抗感染。

1.2.4 术后动物情况观察

植入术后,观察动物基本情况,包括手术期死亡情况、伤口感染(手术部位有无脓肿,伤口愈合是否良好)、运动障碍(四肢行为是否正常,动作是否迟缓,是否有瘫痪)、精神异常(是否消瘦、呆立)、脑脊液渗漏(脑脊液有无渗出)。

1.2.5 血液学及血清生化指标检测

术前及术后7 d、30 d、60 d、90 d(安乐死之前),分别采集两组兔的耳静脉血,用全自动血细胞分析仪和全自动生化分析仪分别进行血细胞五分类分析和血清生化检测。

1.2.6 术后安乐死及大体解剖

术后分别在7 d、30 d、60 d、90 d时对2组动物各6只进行安乐死:按动物体质量,先肌肉注射剂量为3 mg/kg的速眠新,再耳缘静脉注射剂量为0.4 mL/kg的10%氯化钾溶液。然后解剖手术部位:用超声骨刀沿手术部位外缘切开,取颅骨、硬脑膜和脑组织为一体的长约3 cm的正方形标本;获得标本后,观察标本横切面大体外观,包括手术部位创面愈合情况、补片降解情况、与脑组织粘连情况、是否发生脑水肿、是否发生脑出血、植入后补片位置稳定性、植入物吸收并被新生组织替代和组织长入情况等。

1.2.7 组织病理学观察

获取的颅骨、硬脑膜和脑组织标本通过苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察比较两组的手术周围组织反应情况,评价内容包括粘连情况、纤维增生情况、血管密度和材料降解情况等。

1.2.8 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析,结果数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数的比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后动物基本情况

实验期内2组动物均无意外死亡。供试品试验组未见切口感染;对照品对照组有1例发生切口感染,经换药治疗后转归。剩余动物均于术后1~3 d恢复正常采食和饮水。两组均未发生运动障碍、癫痫、脑脊液渗漏、精神异常及发热等现象。

2.2 术后局部愈合情况

术后7 d,试验组和对照组动物头皮均愈合良好,无脓肿、无皮下积液。解剖后发现:两组动物植入的硬脑膜补片均与周边硬脑膜形态连续,能完整封闭硬脑膜缺损,无脑脊液漏出,可辨认出补片边界;补片与脑组织可分离,与大脑表面无粘连;脑组织局部均无受压、充血和水肿,局部无脓肿及渗出(图1A1、1A2)。

术后30 d,两组动物解剖可见颅骨瓣与头骨之间的缝隙已经被纤维瘢痕组织所替代,两组补片均出现部分降解,与周边硬脑膜融合长入,补片与大脑表面均无粘连;各脑隙均无积液(图1B1、1B2)。

术后60 d,两组补片均大部分降解,补片边缘与周边硬脑膜不能辨别,创面无粘连;硬脑膜下各脑隙未见异常(图1C1、1C2)。

术后90 d,两组硬脑膜及脑组织的解剖形态已完全修复,均未发现明显异常(图1D1、1D2)。

2.3 血液学指标

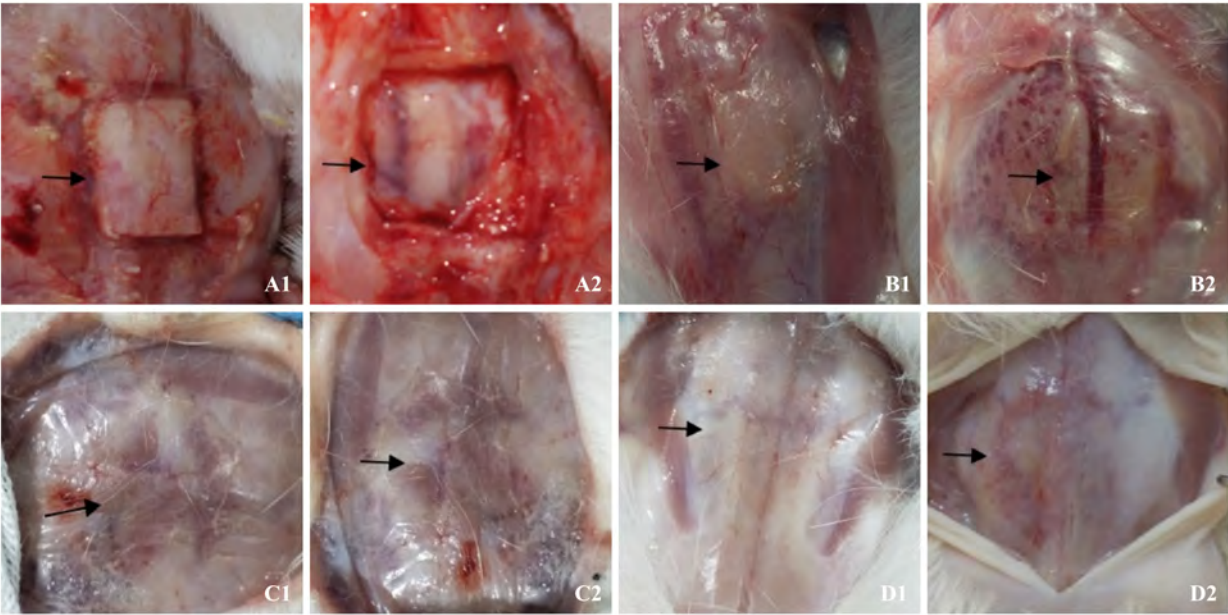
试验组和对照组相比,术前及术后7 d、30 d、60 d和90 d的白细胞、淋巴细胞、红细胞、血红蛋白和血小板数量差异均无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

2.4 血液生化指标

试验组和对照组相比,在术前、术后7 d、术后30 d、术后60 d和术后90 d的谷丙转氨酶、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰基转移酶、血清球蛋白、血清白蛋白、尿素氮和肌酸激酶含量差异均无统计学意义($P>0.05$)(表2)。

2.5 病理组织学检测

术后7 d,试验组和对照组兔脑组织在光学显微镜下尚可辨认出补片边缘,补片内部可见淋巴细胞和单核细胞浸润,表现出轻微的炎症反应;脑室区和脑实质内组织结构正常,均未见明显炎症细胞浸润,与补片均未见明显粘连;补片表层可见成纤维细胞增生,



注：A1、B1、C1和D1分别为试验组植入供试品（国产的脱细胞猪小肠黏膜下层基质材料）后7 d、30 d、60 d和90 d；A2、B2、C2和D2分别为对照组植入对照品（购自美国Cook Biotech Incorporated公司的生物硬脑膜修补片）后7 d、30 d、60 d和90 d。箭头所指为各时间点补片与硬脑膜融合情况。

图1 不同时间点的兔硬脑膜修复情况
Figure 1 Rabbit dura mater repair process at the indicated time points

表1 两组兔不同时间点血液学常规指标比较
Table 1 Routine blood parameters in the two groups of rabbits at the indicated time point

($\bar{x}\pm s$, n=6)

指标	组别	时间点				
		术前	术后7 d	术后30 d	术后60 d	术后90 d
白细胞计数/($10^9\cdot L^{-1}$)	试验组	9.6±0.9	10.4±0.7	9.8±0.5	9.6±1.1	10.0±0.9
	对照组	9.5±0.9	10.5±0.8	9.7±0.5	9.8±0.9	9.9±0.7
淋巴细胞数/($10^9\cdot L^{-1}$)	试验组	3.8±0.4	3.7±0.4	3.7±0.5	3.8±0.3	3.8±0.3
	对照组	3.6±0.4	3.7±0.4	3.7±0.4	3.8±0.4	3.9±0.2
红细胞计数/($10^{12}\cdot L^{-1}$)	试验组	6.4±0.7	6.3±0.8	6.3±0.6	6.4±0.3	6.4±0.5
	对照组	6.3±0.7	6.3±0.7	6.3±0.8	6.4±0.6	6.4±0.8
血红蛋白浓度/($g\cdot L^{-1}$)	试验组	120.0±14.3	122.0±15.4	123.0±12.7	123.0±11.6	125.0±9.7
	对照组	122.0±13.2	122.0±12.6	123.0±20.4	125.0±12.0	125.0±14.7
血小板数/($10^9\cdot L^{-1}$)	试验组	349.0±31.2	350.0±30.6	348.0±29.5	352.0±34.1	353.0±30.6
	对照组	354.0±27.3	348.0±30.7	351.0±27.4	355.0±29.8	353.0±35.6

注：试验组植入供试品（国产的脱细胞猪小肠黏膜下层基质材料），对照组植入对照品（购自美国Cook Biotech Incorporated公司的生物硬脑膜修补片）。各时间点两组间比较均 $P>0.05$ 。

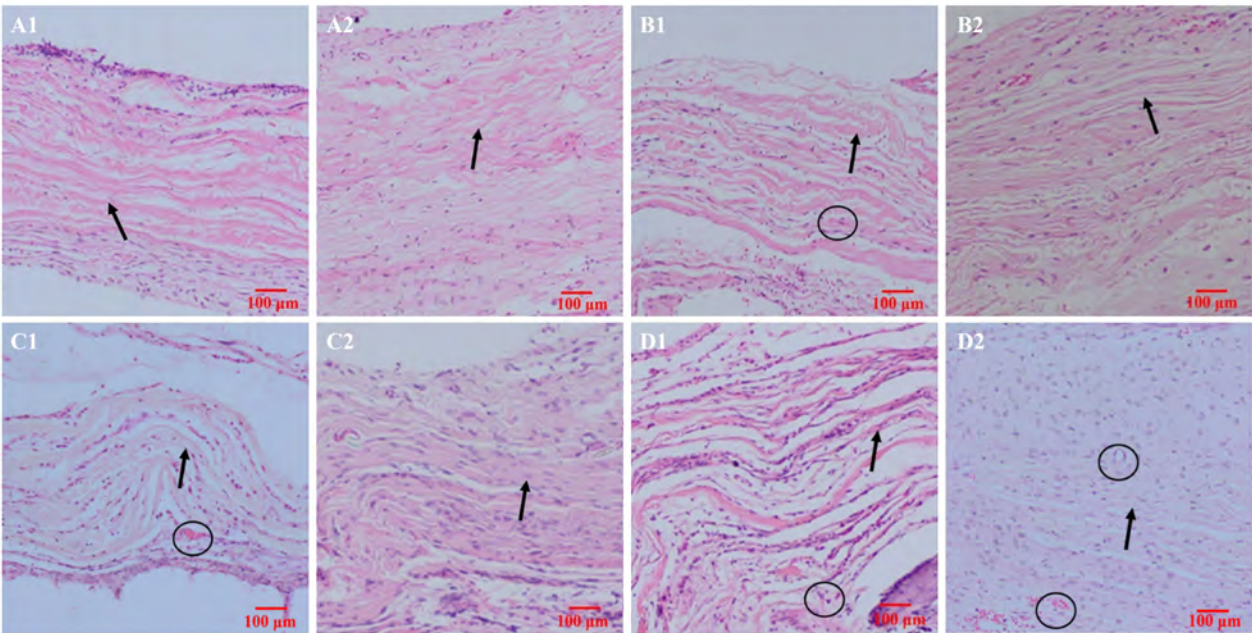
并可观察到新生血管（图2A1、2A2）。
术后30 d，试验组和对照组兔脑组织在镜下均不能辨认出补片边缘，补片与硬脑膜组织完全融合，偶见淋巴细胞，补片内部结构松散，可见纤维碎片，提示补片已被宿主细胞降解；“碎片”之间可见较多成纤维细胞，也可见新生血管；补片内侧面可见内皮细胞覆盖，局部脑组织正常，蛛网膜正常（图2B1、2B2）。
术后60 d，试验组和对照组补片内部均未见炎症细胞，补片内部成纤维细胞密度增高，新生胶原纤维排列规则，新生血管密度增加，未见明显瘢痕组织；硬膜内侧面内皮细胞密度增高，排列规则（图2C1、2C2）。
术后90 d，试验组和对照组硬膜内侧面均可观察到完整内皮，补片均完全降解，可观察到厚壁成熟血管，胶原纤维排列规则，蛛网膜边界清晰，脑实质结构正常（图2D1、2D2）。

表 2 两组兔不同时间点的血液生化指标

Table 2 Blood biochemical indicators in the two groups of rabbits at the indicated time points

		$(\bar{x}\pm s, n=6)$				
生化指标	组别	时间点				
		术前	术后 7 d	术后 30 d	术后 60 d	术后 90 d
谷丙转氨酶 $\rho/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	41.7 $\pm$ 5.9	41.7 $\pm$ 2.7	41.9 $\pm$ 2.6	41.7 $\pm$ 3.0	41.8 $\pm$ 2.9
	对照组	42.0 $\pm$ 5.8	41.9 $\pm$ 4.2	41.9 $\pm$ 3.4	41.7 $\pm$ 3.9	41.9 $\pm$ 3.5
碱性磷酸酶 $\rho/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	68.2 $\pm$ 4.3	68.8 $\pm$ 4.0	68.8 $\pm$ 3.8	69.3 $\pm$ 3.4	69.7 $\pm$ 3.5
	对照组	68.1 $\pm$ 3.8	69.0 $\pm$ 4.2	69.2 $\pm$ 3.2	69.5 $\pm$ 3.9	69.7 $\pm$ 3.5
γ -谷氨酰基转移酶 $\rho/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	3.8 $\pm$ 0.6	69.2 $\pm$ 3.2	69.5 $\pm$ 3.9	69.7 $\pm$ 3.5	6.4 $\pm$ 0.5
	对照组	3.8 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.7	3.8 $\pm$ 0.9	3.9 $\pm$ 0.4
血清白蛋白 $c/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	40.6 $\pm$ 5.8	40.8 $\pm$ 4.4	40.9 $\pm$ 2.3	40.6 $\pm$ 4.4	41.0 $\pm$ 2.6
	对照组	40.6 $\pm$ 3.8	40.7 $\pm$ 3.8	40.9 $\pm$ 4.3	40.8 $\pm$ 6.1	40.9 $\pm$ 3.5
血清球蛋白 $c/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	30.1 $\pm$ 2.5	30.1 $\pm$ 1.8	30.4 $\pm$ 1.3	30.2 $\pm$ 2.6	30.4 $\pm$ 2.7
	对照组	30.0 $\pm$ 2.1	30.3 $\pm$ 1.6	30.2 $\pm$ 2.1	30.1 $\pm$ 3.1	30.5 $\pm$ 2.4
尿素氮 $c/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	13.2 $\pm$ 1.2	13.2 $\pm$ 0.9	13.2 $\pm$ 1.3	13.2 $\pm$ 1.0	13.3 $\pm$ 1.0
	对照组	13.2 $\pm$ 1.3	13.2 $\pm$ 1.5	13.3 $\pm$ 1.1	13.2 $\pm$ 1.0	13.3 $\pm$ 1.3
肌酸激酶 $\rho/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	试验组	146.0 $\pm$ 11.4	145.0 $\pm$ 11.2	145.0 $\pm$ 11.5	145.0 $\pm$ 9.6	145.0 $\pm$ 15.3
	对照组	146.0 $\pm$ 15.2	144.0 $\pm$ 11.3	145.0 $\pm$ 11.5	144.0 $\pm$ 11.7	145.0 $\pm$ 11.6

注：试验组植入供试品(国产的脱细胞猪小肠黏膜下层基质材料)，对照组植入对照品(购自美国 Cook Biotech Incorporated 公司的生物硬脑膜修补片)。各时间点两组间比较均 $P>0.05$ 。



注：A1为试验组术后 7 d，植入的硬脑膜补片结构完整（箭头所示）；A2为对照组术后 7 d，植入的硬脑膜补片结构完整（箭头所示）；B1为试验组术后 30 d，植入的硬脑膜补片结构松散（箭头所示），出现新生血管（椭圆圈所示）；B2为对照组术后 30 d，植入的硬脑膜补片结构相对完整（箭头所示），可见有较多成纤维细胞；C1为试验组术后 60 d，呈现新生硬脑膜（箭头所示），膜内血管已形成（椭圆圈所示）；C2为对照组术后 60 d，呈现结构完整的新生硬脑膜（箭头所示），内有大量成纤维细胞；D1为试验组术后 90 d，新生硬脑膜结构完整（箭头所示），内有大量内皮细胞和成纤维细胞，以及丰富的小血管（椭圆圈所示）；D2为对照组术后 90 d，新生硬脑膜结构完整（箭头所示），内有大量成纤维细胞，可见新生血管（椭圆圈所示）。试验组植入供试品(国产的脱细胞猪小肠黏膜下层基质材料)，对照组植入对照品(购自美国 Cook Biotech Incorporated 公司的生物硬脑膜修补片)。标尺=100 μm 。

图 2 两组术后各时间点兔脑植入部位的 HE 染色组织学变化(×100)

Figure 2 Histological changes in the implant region of rabbit brain following hematoxylin-eosin staining at the indicated time points after surgery (×100)

3 讨论

小肠黏膜下层基质是无细胞的来源于猪小肠的一种基质材料,可以为新生细胞和血管的生长提供附着和支撑功能^[8]。研究表明,小肠黏膜下层基质材料在与宿主作用后可逐渐成为宿主组织的一部分^[9]。本研究中采用的是具有自主知识产权的非交联型猪小肠黏膜下层脱细胞基质材料,该材料具有良好的生物相容性,DNA残留量和 α -半乳糖基抗原(α -Gal抗原)残留低,并具有良好的力学性能。

研究结果显示,试验样品能够主动诱导成纤维细胞增生、分化,促进新生血管生成,形成排列规则、致密的纤维层,并诱导内皮细胞增殖,形成完整的内皮层,不影响蛛网膜下腔的完整性,在植入90 d时实现了硬脑膜的结构和功能修复。在上述修复过程中,国产试验样品与国外对照样品的效果之间无明显差异。组织病理学结果显示,两组样品植入后7 d可观察到补片内部存在炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主,补片周围组织无明显炎性反应表现,植入后30 d炎性细胞浸润基本消失。

本研究表明,植入初期的炎性细胞浸润可趋化成纤维细胞、血管内皮细胞长入,并与材料降解密切相关。血常规及血液生化检测结果显示,植入后3 d出现轻度炎性反应,术后1周即明显减轻,考虑与手术创伤应激有关。小肠黏膜下层基质植入体内可能会引起以Th₂淋巴细胞增加为主的一过性免疫反应,Th₂淋巴细胞不激活巨噬细胞,产生的IgG不引起补体反应,因此不会引起显著免疫排斥反应^[10]。本研究中HE染色病理组织学检测结果显示:两组样品植入后7 d即出现成纤维细胞增生,并可观察到补片纤维碎片,提示在植入早期即同时启动了降解过程和修复过程;植入后30 d,可观察到规则致密的纤维层和松散的补片纤维同时存在;术后90 d时可观察到补片完全降解,代之以完整连续的硬膜结构。总之,通过本研究试验结果可以证明,国产的猪小肠黏膜下层脱细胞基质材料是一种促进硬脑膜损伤愈合的理想补片材料,使用局部愈合良好,无红肿、渗出等炎性反应的发生,生物相容性良好,可逐渐降解,动物试验证明安全、有效,未来有望用于国内硬脑膜缺损的治疗。

【作者贡献】

孙立旦:设计实验,实施研究,采集并分析数据,撰写文章;
杨飞霞:实施研究,采集并分析数据,文章内容补充与整理;
张迪:实施研究,采集数据;
陈泽良:实验指导,技术支持;
张志慧:实施研究,数据统计分析;
李英俊:实验设计及指导;
史利军:实验指导,经费获取。

【利益声明】所有作者均声明本文不存在利益冲突。

【参考文献】

- [1] ZHAO P, LI X, FANG Q, et al. Surface modification of small intestine submucosa in tissue engineering[J]. Regen Biomater, 2020, 7(4):339-348. DOI: 10.1093/rb/rbaa 014.
- [2] SHI L, RONFARD V. Biochemical and biomechanical characterization of porcine small intestinal submucosa (SIS): a mini review[J]. Int J Burns Trauma, 2013, 3(4):173-179. DOI: 10.1002/adfm.201300215.
- [3] MOSALA NEZHAD Z, PONCELET A, DE KERCHOVEL, et al. Small intestinal submucosa extracellular matrix (CorMatrix) in cardiovascular surgery: a systematic review [J]. Interact CardioVasc Thorac Surg, 2016, 22:839-850. DOI: 10.1093/icvts/ivw020.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 医疗器械生物学评价:GB/T 16886—2011/ISO 10993-1:2009 [S]. 2011-06-16.
- [5] 王宇飞. 复层电纺膜用于硬脑膜替代材料的研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2013.
- [6] 陈汇浩. 壳聚糖硬膜补片及羟丁基壳聚糖修复硬脑膜的实验研究[D]. 上海:第二军医大学, 2011.
- [7] 郭兴锋. 几丁糖电纺膜防脑脊液漏的实验研究[D]. 上海:第二军医大学, 2014.
- [8] JERNIGAN TW, CROCE MA, CAGIANNOS C, et al. Small intestinal submucosa for vascular reconstruction in the presence of gastrointestinal contamination[J]. Ann Surg, 2004, 239(5):733-738. DOI: 10.1097/01.sla.0000124447.30808.c7.
- [9] HODDE J. Naturally occurring scaffolds for soft tissue repair and regeneration[J]. Tissue Eng, 2002, 8(2): 295-308. DOI: 10.1089/107632702753725058.
- [10] RONG JJ, SANG HF, QIAN AM, et al. Biocompatibility of porcine small intestinal submucosa and rat endothelial progenitor cells *in vitro*[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2): 1282-1291.

(收稿日期:2021-03-18 修回日期:2021-09-23)

(本文编辑:富群华,赵宇朋,张俊彦)

运动疲劳状态下大鼠脑皮层单羧酸转运蛋白表达的变化及意义

高 晨, 王 苑, 李玉荣, 裴文娟

(联勤保障部队第九四〇医院全科医学科, 兰州 730050)

[摘要] **目的** 探讨机体对运动疲劳的适应性与大脑皮层单羧酸转运蛋白 (monocarboxylate transporters, MCTs) 表达变化的关联性。**方法** 42只清洁级SD大鼠随机均分为对照组和疲劳1~6组。疲劳1~6组大鼠分别进行跑台负荷力竭运动1、3、5、7、9、14 d, 建立运动疲劳模型。首先记录各疲劳组大鼠达到力竭状态的平均时间, 确定大鼠运动疲劳的变化趋势。随后利用蛋白质印迹和免疫荧光双标法检测各组大鼠脑运动区皮层MCT1、MCT2和MCT4的表达变化。**结果** 运动5 d后疲劳3组大鼠运动力竭时间达到最短 [(67.00±7.07) min], 运动9 d后恢复至 (89.17±9.45) min, 二者差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 此后大鼠运动能力基本维持恒定。蛋白质印迹法检测提示, 对照组大鼠运动区皮层MCT1、MCT2及MCT4均少量表达; 运动5 d后, 疲劳3组MCT2表达相比对照组升高74.2% ($P < 0.05$); 运动7 d后, 疲劳4组MCT1和MCT2表达相比对照组升高89.5%和92.0% ($P < 0.05$); 此后鼠脑MCT1、MCT2及MCT4维持高表达状态。免疫荧光与蛋白质印迹法检测结果相一致。**结论** 脑皮层MCTs表达增加所代表的脑乳酸代谢调控与机体对运动疲劳产生的适应性相关联, 可能是运动疲劳医学干预的靶点。

[关键词] 运动疲劳; 中枢疲劳; 单羧酸转运蛋白; 大脑皮层; 大鼠

[中图分类号] G804.7; Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0042-06

Expression and Significance of Monocarboxylate Transporters in Cortex of Rats After Exercise-induced Fatigue

GAO Chen, WANG Wan, LI Yurong, PEI Wenjuan

(Department of General Practice, the 940th Hospital of Joint Logistic Support Force of Chinese People's Liberation Army, Lanzhou 730050, China)

Correspondence to: GAO Chen, E-mail: gc2006418@163.com

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between the adaptation of the body to exercise-induced fatigue and the expression of monocarboxylate transporters (MCTs) in the cerebral cortex. **Methods** A total of 42 SD rats were randomly divided into control group and fatigue group 1 to 6. Firstly, the average exhaustive times in each fatigue group were recorded to determine the trend of exercise-induced fatigue after 1, 3, 5, 7, 9 and 14 days exhaustive load treadmill exercises respectively. Subsequently, the changes of MCT1, MCT2 and MCT4 expression in cerebral motor cortex of rat brain were detected by Western blotting and double-labeling immunofluorescence. **Results** After 5 days of exercise, the average exhaustive time of rats in fatigue of group 3 reached the lowest level [(67.00±7.07) min] and it recovered to (89.17±9.45) min after 9 days of exercise, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After that, the exercise ability of the rats remained basically constant. Western blotting analysis showed a small amount of MCT1, MCT2 and MCT4 normal expression in cerebral motor cortex of rats' brain in control group. After 5 days of exercise, the expression levels of MCT2 in fatigue of group 3 were significantly increased by 74.2% compared with the control group ($P < 0.05$). After 7 days of exercise, the expression levels of MCT1 and MCT4 in fatigue of group 4 were significantly increased by 89.5% and 92.0% compared with the control group ($P < 0.05$). After that, MCT1, MCT2, and MCT4 maintained high expression. The results of immunofluorescence were consistent with those of Western blotting. **Conclusion** The regulation of cerebral lactic acid

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(20JR5RA600)

[作者简介] 高 晨(1977—),男,博士,副主任医师,主要从事发作性神经系统疾病相关研究。E-mail: gc2006418@163.com

metabolism represented by the increased expression of MCTs in the cerebral cortex is related to the adaptation of the body to exercise-induced fatigue, which can be used as a target for exercise-induced fatigue medical intervention.

[Key words] Exercise-induced fatigue; Central fatigue; Monocarboxylate transporters; Cerebral cortex; Rats

疲劳发生在外周肌肉和中枢神经两个部位, 决定后者的关键因素是脑能量代谢失衡, 从而难以维持中枢神经系统持续向外周发放神经冲动^[1], 其机制与运动缺氧导致静息状态下脑电活动减弱并反馈性抑制中枢神经系统和脊髓前角 α 运动神经元活动有关^[2-4]。研究表明, 极量运动或缺氧状态下, 无氧代谢所产生的乳酸能够被大脑摄取并作为能量底物为神经元供能^[5], 且乳酸优先于葡萄糖被神经元利用氧化供能^[6]。这一机制在剧烈活动时对于维持突触传递具有重要作用。然而, 另有研究表明, 缺血缺氧或脑损伤后乳酸堆积却通过降低pH值而引发一系列病理反应, 从而损伤神经元^[7-8]。机体乳酸代谢转运的载体是广泛分布于组织细胞膜上的单羧酸转运蛋白(monocarboxylate transporters, MCTs), 其可分为14种亚型^[9]。其中, MCT1主要在微血管内皮细胞、室管膜细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞中表达, MCT2主要在神经元中表达, 而MCT4几乎只在星形胶质细胞中表达^[10]。研究证实, 血乳酸难以通过血脑屏障, 星形胶质细胞是脑乳酸的主要来源^[11]。广泛表达于星形胶质细胞和神经元的MCT1、MCT2和MCT4在中枢乳酸的产生和利用中起到至关重要的作用^[12-13]。据此推测, 运动疲劳过程中, 正是由于MCTs的存在, 脑乳酸在氧化供能和脑损伤之间维系了一种平衡状态。目前关于运动疲劳状态下脑内MCTs表达的变化尚无明确结论。本研究通过检测运动疲劳模型动物的运动力竭时间变化以及大脑皮层运动区MCT1、MCT2和MCT4的表达, 初步探讨运动耐力变化与脑乳酸代谢转运之间的相关性, 为运动疲劳的医学干预奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

8周龄清洁级雄性SD大鼠42只, 体质量(280 ± 10) g, 由联勤保障部队第九四〇医院动物实验科提供[SCXK(军) 2017-0023]。大鼠常规分笼饲养于屏障设施[SYXK(军) 2017-0047], 正常饮水、饮食。环境温度维持在 $18 \sim 24^\circ\text{C}$, 相对湿度40%~60%。动

物实验经联勤保障部队第九四〇医院伦理委员会审核同意(编号2020KYLL032)。大鼠随机分为7组, 每组6只。对照组(Control)正常饲养, 不运动; 其余6组为疲劳1~6组(Fatigue 1-6)分别进行力竭运动1、3、5、7、9、14 d, 以达到运动疲劳状态。

1.2 实验设备及试剂

ZH-PT型动物跑台为安徽淮北正华生物仪器设备有限公司产品。MCT1(货号PAB16059)和MCT4(货号PAB21410)多克隆抗体均购自亚诺法(Abnova)生物股份有限公司, MCT2(货号SC-50323)购自美国Santa公司, 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)(货号3670)单克隆抗体购自美国Cell Signaling Technology公司, 神经元核抗原(neuronal nuclei antigen, NeuN)(货号MAB377)单克隆抗体购自美国Millipore公司。荧光单克隆抗体购自北京康为世纪生物科技有限公司。荧光显微镜(型号AX80)购自日本Olympus株式会社。

1.3 运动疲劳模型建立

采用Bedford等^[14]的递增负荷运动方案建立大鼠运动疲劳模型。疲劳组大鼠先行在动物跑台上进行3 d适应性训练(速度为15 m/min, 时间为5 min/d, 坡度 0°), 之后分别进行为期1、3、5、7、9和14 d的递增负荷运动(速度为 $8.2 \text{ m/min} \times 15 \text{ min} + 15 \text{ m/min} \times 15 \text{ min} + 20 \text{ m/min}$ 持续, 直至力竭, 1次/日)。力竭标准: 大鼠跑步姿态由蹬地式变为伏地式, 滞留跑道后1/3处达3次以上, 各种刺激驱赶无效, 且停跑后表现为呼吸急促、神情倦怠、反应迟钝^[15]。分别记录各组大鼠负荷运动最后1 d达到力竭状态的运动时间, 取平均值。

1.4 蛋白质印迹检测

不同时间疲劳模型建立后, 各组分别取3只大鼠在异氟烷麻醉下断头处死。完整取出脑组织, 嗅球至小脑蚓部前后冠状均分为5等份, 第2和3等份最表层主要为运动区皮层。取运动区皮层组织, 匀浆后裂解, 提取总蛋白, BCA法测定浓度。然后行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 每孔上样蛋白总量为 $20 \mu\text{g}$, 电泳时间约120 min。电泳结束后以350 mA恒流带电转膜(120 min), 5%牛血清白蛋白室温振荡封闭1 h。5%脱脂奶粉稀释

后, 分别加入一抗 (包括 MCT1、MCT2、MCT4 和 α -tubulin 抗体, 体积稀释比例分别为 1 : 500、1 : 1 000、1 : 500 和 1 : 1 000), 4 °C 孵育过夜; 加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (体积稀释比例为 1 : 5 000), 在室温下振荡孵育 2 h^[16]。滴加发光检测液, 在凝胶成像系统中拍照, 并采用 Image J 软件进行灰度量化分析。实验重复 3 次, 取平均值。

1.5 大鼠脑切片制备及免疫荧光检测

各组剩余 3 只大鼠在异氟烷麻醉下经心脏灌流处死, 断头完整取出脑组织。用质量分数 4% 的多聚甲醛溶液固定 24 h, 蔗糖 PB 溶液阶梯脱水 48 h, 包埋后自嗅球到小脑蚓部前后 5 等份连续冠状位冰冻切片 (厚度 25 μ m)。取第 2 和 3 等份切片进行免疫荧光双标法检测。

鼠脑切片用 1% 牛血清蛋白 + 0.3% Triton X-100 在室温下封阻非特异性结合, 并破膜 1 h。PBS 清洗后, 加入一抗 MCT1 (1 : 200) + GFAP (1 : 500)、MCT2 (1 : 500) + NeuN (1 : 500), 或 MCT4 (1 : 200) + GFAP (1 : 500) 稀释液, 4 °C 缓慢振荡孵育过夜。PBS 清洗后, 加入 1 : 100 稀释的荧光二抗异硫氰酸荧光素和异硫氰酸罗丹明, 室温下缓慢振荡孵育 2 h。PBS 清洗后, 加入 1 : 2 000 稀释的 DAPI, 室温下避光孵育 10 min。PBS 清洗后, 鼠脑切片转移至载玻片上, 60% 甘油 PBS 封固, 荧光显微镜下观察并进行皮层定位图像采集。FITC 激发/发射波长为 480 nm/535 nm, TRITC 激发/发射波长为 535 nm/610 nm。用 Images J 软件进行图像分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件包对本研究数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。不同组样本均数间比较采用单因素方差分析, 并根据各组总体方差齐同与否, 选择 Bonferroni 法或 Tamhane's T2 法修正结果, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠力竭运动时间变化情况

如表 1 所示, 疲劳 1 组大鼠平均运动力竭时间为 (120.17 $\pm$ 11.18) min。运动 5 d 后疲劳 3 组的平均运动力竭时间达到最短, 为 (67.00 $\pm$ 7.07) min。此后, 大鼠运动能力逐渐恢复, 运动 14 d 后疲劳 6 组力竭时间恢复至 (91.17 $\pm$ 11.43) min。与疲劳 1 组相比, 各组大鼠的平均运动力竭时间均明显缩短, 差异均有统计学

意义 ($P < 0.05$)。与力竭时间最短的疲劳 3 组相比, 疲劳 5 组和疲劳 6 组的大鼠力竭时间明显延长, 表明其运动能力的恢复具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各疲劳组大鼠平均力竭时间对比

Table 1 The exhaustive time of rats in fatigue groups

($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	递增负荷运动天数/d	平均运动力竭时间/min
Fatigue 1	1	120.17 $\pm$ 11.18 ^{*△}
Fatigue 2	3	81.17 $\pm$ 10.57 [*]
Fatigue 3	5	67.00 $\pm$ 7.07 ^{*△}
Fatigue 4	7	75.67 $\pm$ 4.97 [*]
Fatigue 5	9	89.17 $\pm$ 9.45 ^{*#}
Fatigue 6	14	91.17 $\pm$ 11.43 [#]

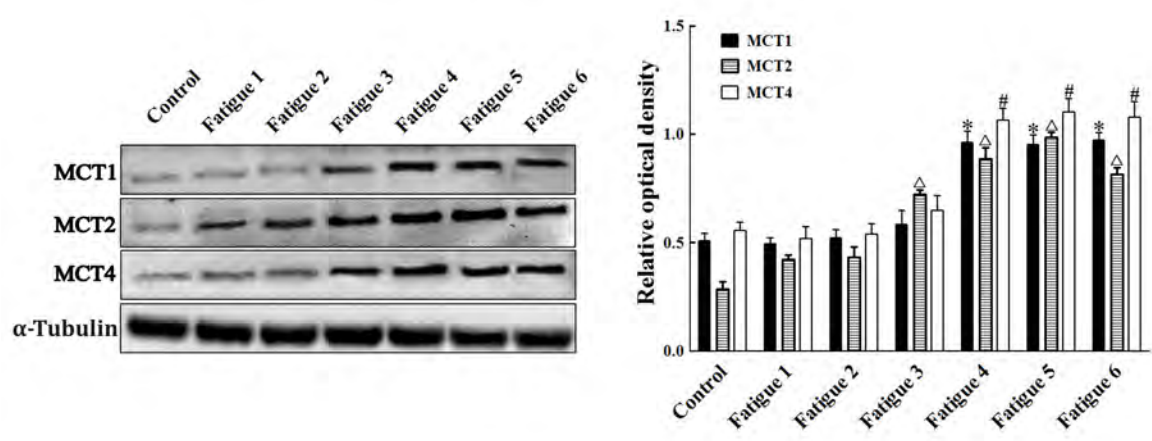
注: Fatigue 1-6 分别为疲劳 1~6 组。与 Fatigue 1 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 Fatigue 3 组比较, [#] $P < 0.05$; 与 Fatigue 5 组比较, [△] $P < 0.05$ 。单因素方差分析采信 Tamhane's T2 修正值。

2.2 大鼠脑运动区皮层 MCT1、MCT2 及 MCT4 表达变化情况

用蛋白质印迹法检测各组大鼠运动区皮层 MCT1、MCT2 及 MCT4 表达的变化情况。如图 1 所示, Control 组大鼠运动区皮层 MCT1、MCT2 及 MCT4 均少量正常表达。疲劳负荷运动 5 d 后, Fatigue 3 组鼠脑运动区皮层中 MCT2 表达较 Control 组明显升高 74.2%。疲劳负荷运动 7 d 后, Fatigue 4 组鼠脑运动区皮层中 MCT1 和 MCT4 表达较 Control 组分别明显升高约 89.5% 和 92.0%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。此后, Fatigue 5 组和 6 组鼠脑运动区皮层中 MCT1、MCT2 和 MCT4 均维持高表达, 与 Control 组相比差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

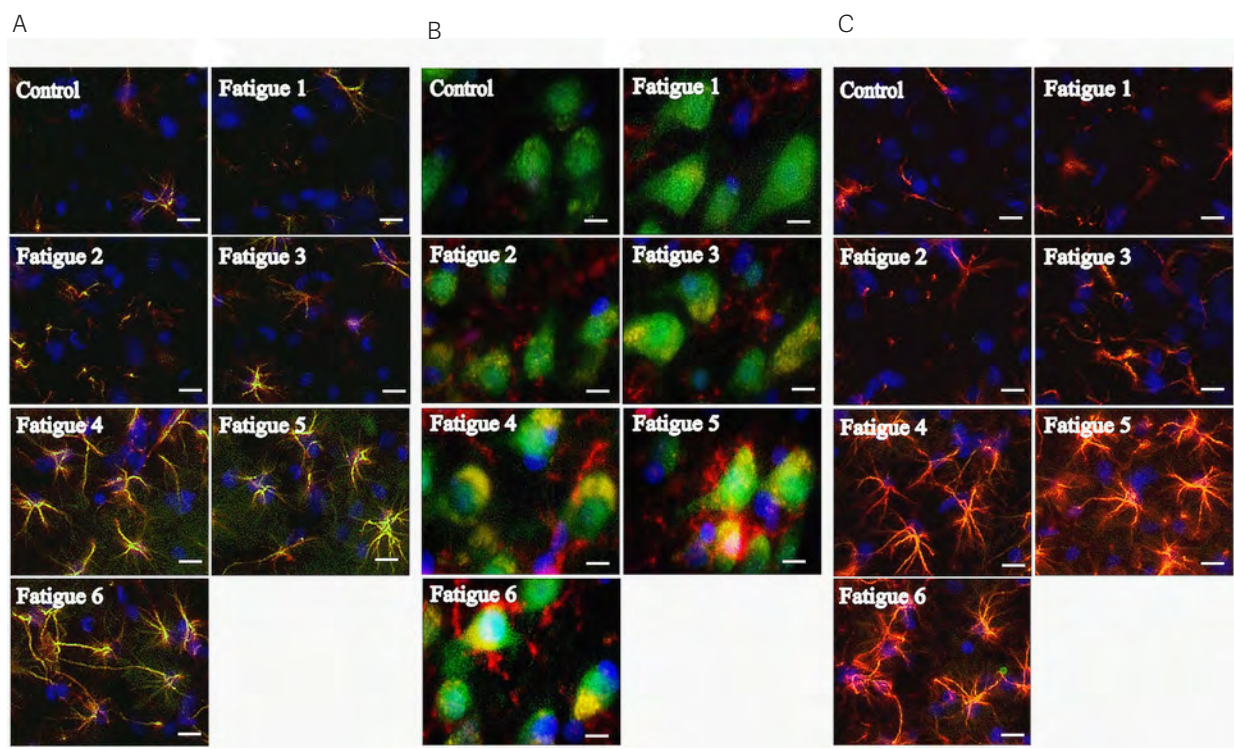
进一步分别利用 MCT1/GFAP、MCT2/NeuN 或 MCT4/GFAP 免疫荧光双标技术对比检测鼠脑运动区皮层胶质细胞中 MCT1、MCT2 和 MCT4 的表达变化情况。如图 2 所示, 与 Control 组相比, 疲劳负荷运动 7 d 后鼠脑运动区皮层胶质细胞中 MCT1 与 MCT4 表达均明显升高并维持稳定; MCT2 的表达也呈现出逐渐增高的趋势, 疲劳负荷运动 5 d 即维持于高表达状态。荧光检测结果与蛋白质印迹检测结果相一致。

结果提示每日疲劳负荷运动后, 大鼠运动能力迅速下降, 在运动 5 d 后达到最低点。此后继续运动, 大鼠脑内 MCTs 表达水平逐渐升高, 脑乳酸转运及代谢被激活, 大鼠运动能力在一定程度上恢复。这种由重复运动诱导的对运动疲劳的适应性, 在运动 1 周后维持于相对平稳的状态。



注：Control为对照组，Fatigue 1-6分别为疲劳1~6组。MCT1、2、4即单羧酸转运蛋白1、2、4。与Control组的MCT1表达量比较，* $P < 0.05$ ；与Control组的MCT2表达量比较， $\Delta P < 0.05$ ；与Control组的MCT4表达量比较，# $P < 0.05$ 。单因素方差分析采信Tamhane's T2修正值， $n=6$ 。

图1 蛋白质印迹法检测各组大鼠脑运动区皮层中MCT1、MCT2和MCT4表达比较
Figure 1 Expression of MCT1, MCT2 and MCT4 in cerebral motor cortex of rats in different groups detected by Western blotting



注：Control为对照组，Fatigue 1-6分别为疲劳1~6组。A为免疫荧光双标GFAP（用胶质纤维酸性蛋白抗体，显示绿色）和MCT1（用单羧酸转运蛋白1抗体，红色）；B为免疫荧光双标NeuN（用神经元核抗原抗体，显示绿色）和MCT2（用单羧酸转运蛋白2抗体，红色）；C为免疫荧光双标GFAP（绿色）和MCT4（用单羧酸转运蛋白4抗体，红色）。细胞核以DAPI染色显示蓝色。比例尺大小为25 μm。

图2 免疫荧光法检测各组大鼠脑运动区皮层MCT1、MCT2和MCT4表达(×400)
Figure 2 Expression of MCT1, MCT2 and MCT4 in cerebral motor cortex of rats in different groups detected by immunofluorescence (×400)

3 讨论

乳酸（C₃H₆O₃）是糖代谢过程的中间产物。与通

常情况下机体对葡萄糖的有氧氧化过程不同，乳酸的产生来源于无氧状态下的糖酵解过程。虽然无氧糖酵解过程的能量供应效率低于糖的有氧氧化，但对于剧

烈运动状态下的能量代谢维持至关重要。通常,运动过程中,肌肉是产生乳酸最多的部位^[17]。大强度运动时,糖酵解生成的乳酸使细胞内 H^+ 浓度上升,pH值降低。机体对乳酸的代谢起始于细胞间乳酸的穿梭,而后进一步通过糖异生等途径供应能量。乳酸的穿梭过程依赖于MCTs。研究表明,运动强度的变化是MCTs含量改变的重要因素。拥有14种亚型的MCTs分布于不同的组织细胞膜表面,其中MCT1、MCT2和MCT4对运动状态下的乳酸转运至关重要^[13]。由于乳酸穿过细胞膜进行转运是一个主动耗能的过程,因此较大强度的耐力运动后细胞膜上与MCTs共同起到协同转运作用的钠氢交换蛋白(sodium hydrogen exchanger 1, NHE1)的表达亦相应升高,从而利用 Na^+/H^+ ATP酶产生的化学梯度能量完成整个转运过程,同时维持细胞内外pH值的相对稳定。研究表明,这种协同转运是乳酸与 H^+ 以1:1的等摩尔方式相偶联的同向转运,其中NHE1和MCTs对细胞内外pH调节至关重要,特别是在代谢活跃的状态下。从这一意义上讲,MCTs在机体乳酸循环、能量代谢以及内环境pH值的调节方面发挥着重要作用^[18-19]。外周肌肉组织中,MCT1主要存在于氧化型慢肌细胞膜和细胞内部,调控乳酸的摄取与内流。MCT4主要在酵解型快肌中高表达,调控乳酸的排出与外流^[20]。而携带MCT2的细胞表现出强烈的乳酸消耗倾向,这与该亚型在诸如神经元这类氧化高度活跃的细胞中高表达相一致^[21]。因此,MCT1、MCT2和MCT4在不同细胞间对乳酸转运作用各有侧重,才得以协同完成乳酸穿梭的整个过程。Eydoux等^[22]研究显示,短时间低强度运动对外周横纹肌中MCT1、MCT2和MCT4表达的影响不甚明显,而大强度力竭运动后三者的表达水平均明显升高。本研究则针对运动后中枢神经系统中MCTs表达的变化趋势进行了针对性探究。

乳酸在脑内的代谢与外周有所不同。实验表明,体外灌流乳酸钠使血液中乳酸浓度显著升高,但颈内静脉中乳酸浓度变化不大,表明血乳酸变化对脑乳酸变化影响较小,提示血脑屏障的存在使得外周乳酸很难进入脑中。脑内胞外乳酸是独立于血乳酸而存在的^[8,11]。1998年,Pellerin等^[11]研究发现神经元与神经胶质细胞间的乳酸存在一种特殊的分配状态,即脑内乳酸来源于星形胶质细胞,而神经元则成为吸收和利用乳酸的部位。其后,有关脑内乳酸作用的研究结果不尽相同。Chih等^[23]综合了Pellerin等^[24]、Wada等^[25]和Takata等^[26]的研究结果,提出葡萄糖仍然是

神经胶质细胞和神经元的主要能量底物,但在低血糖等特殊情况下,或由于脑神经的多样性,机体中某些神经细胞也可能利用乳酸暂时供能。运动状态下,脑能量供应的特殊情况正符合上述研究结论。目前学术界公认的是,乳酸由神经胶质细胞无氧糖酵解葡萄糖产生,作为能量底物为神经元供能,尤其在剧烈活动时对维持突触传递具有重要作用。特别是在无氧或有氧条件下,哺乳动物中枢神经系统中兴奋性神经元优先利用胞外的乳酸,而不是葡萄糖,作为主要的能量底物^[8,27]。以上研究多基于代谢水平的生物化学检测得出结论,而对于乳酸代谢转运主要媒介MCTs在分子水平的变化情况,尚缺乏系统的研究。因此,本研究重点关注了MCTs在剧烈运动的特殊条件下脑内表达的变化情况。研究结果表明,大鼠运动能力在疲劳负荷初期下降较为明显,此时MCTs表达变化不明显;随着运动时间延长,1周左右后大鼠运动能力逐渐恢复,相应地,鼠脑内运动区皮层MCT1、MCT2和MCT4的表达也在相应时间段内呈现出逐渐升高的趋势。相对于MCT1和MCT4,皮层运动神经元表达的MCT2在负荷运动后升高较早且趋势平缓;这就表明疲劳负荷运动后,鼠脑内乳酸排出与摄取利用的整个链路均表现出适应运动疲劳的积极变化。上述变化趋势正是对代谢水平乳酸生化检测结论的有力印证。同时,本研究结果也提示脑内MCTs的表达变化与大鼠对运动疲劳的适应性存在某种关联性,这种适应性在疲劳负荷运动1周后维持于相对平稳的状态。综合前述的相关研究,笔者认为脑内MCTs表达变化所代表的脑乳酸代谢调控可能是机体对运动疲劳(尤其是中枢性运动疲劳)产生适应性的机制之一。

当然,疲劳产生的原因是多方面的,外周肌肉及中枢神经系统都参与其中。仅就中枢疲劳而言,兴奋性与抑制性氨基酸平衡状态,脑内多巴胺能神经元、5-羟色胺等抑制性神经递质以及支链氨基酸等因素近年来均有相关研究^[28]。本研究仅对运动疲劳状态下脑内MCTs变化进行了初步探索,进一步的研究将着重于MCTs分子表达水平干预后,运动疲劳电生理及动物行为学的变化,以期对相关研究结果提供进一步佐证。

[作者贡献]

高晨:负责实验总体设计,数据统计及课题论文撰写;
王菀:负责标准化大鼠运动疲劳模型构建及运动能力检测;
李玉荣:负责标鼠脑皮层蛋白提取及蛋白质印迹检测;
裴文娟:负责鼠脑切片制备及免疫荧光检测。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] SECHER N H, QUISTORFF B, DALSGAARD M K. The muscles work, but the brain gets tired[J]. *Ugeskr Laeger*, 2006, 168(51): 4503-4506.
- [2] AMANN M, ROMER L M, SUBUDHI A W, et al. Severity of arterial hypoxaemia affects the relative contributions of peripheral muscle fatigue to exercise performance in healthy humans[J]. *J Physiol*, 2007, 581(1): 389-403. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.129700.
- [3] DAVIS J M, BAILEY S P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 1997, 29(1): 45-57. DOI: 10.1097/00005768-199701000-00008.
- [4] 刘红平, 杨国愉, 张晶轩, 等. 急进高原驻训军人躯体-脑力疲劳追踪研究[J]. *西北国防医学杂志*, 2017, 38(9): 565-569. DOI: 10.16021/j.cnki.1007-8622.2017.09.002.
- [5] SCHURR A, GOZAL E. Aerobic production and utilization of lactate satisfy increased energy demands upon neuronal activation in hippocampal slices and provide neuroprotection against oxidative stress[J]. *Front Pharmacol*, 2011, 2:96. DOI:10.3389/fphar.2011.00096.
- [6] GAO C, ZHOU L Y, ZHU W X, et al. Monocarboxylate transporter-dependent mechanism confers resistance to oxygen- and glucose-deprivation injury in astrocyte-neuron co-cultures[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 594:99-104. DOI:10.1016/j.neulet.2015.03.062.
- [7] DHILLON H S, DOSE J M, SCHEFF S W, et al. Time course of changes in lactate and free fatty acids after experimental brain injury and relationship to morphologic damage[J]. *Exp Neurol*, 1997, 146(1):240-249. DOI:10.1006/exnr.1997.6524.
- [8] 王静, 刘洪涛. 脑乳酸对运动中中枢疲劳的作用及影响[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(22):4572-4573.
- [9] HALESTRAP A P. The SLC16 gene family: structure, role and regulation in health and disease[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(2-3):337-349. DOI:10.1016/j.mam.2012.05.003.
- [10] GAO C, ZHU W X, Tian L Z, et al. MCT4-mediated expression of EAAT1 is involved in the resistance to hypoxia injury in astrocyte-neuron co-cultures[J]. *Neurochem Res*, 2014, 40(4): 818-828. DOI: 10.1007/s11064-015-1532-2.
- [11] PELLERIN L, PELLEGRINI G, BITTAR P G, et al. Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle[J]. *Dev Neurosci*, 1998, 20(4-5):291-299. DOI:10.1159/000017324.
- [12] SIMPSON I A, CARRUTHERS A, VANNUCCI S J. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(11):1766-1791. DOI:10.1038/sj.jcbfm.9600521.
- [13] 程泽鹏, 冯钰, 史仍飞. 运动过程中单羧酸转运蛋白(MCTs)作用的研究进展[J]. *军事体育学报*, 2017, 36(3):89-94. DOI:10.3969/j.issn.1671-1300.2017.03.025
- [14] BEDFORD T G, TIPTON C M, WILSON N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1979, 47(6): 1278-1283. DOI: 10.1152/jappl.1979.47.6.1278.
- [15] 胡琰茹, 乔德才, 刘晓莉. 力竭运动过程中大鼠苍白球内侧部对皮层的调控作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2013, 32(5):420-425,419. DOI:10.16038/j.1000-6710.2013.05.001.
- [16] GAO C, WANG C, LIU B, et al. Intermittent hypoxia preconditioning-induced epileptic tolerance by upregulation of monocarboxylate transporter 4 expression in rat hippocampal astrocytes[J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(11):2160-2169. DOI:10.1007/s11064-014-1411-2.
- [17] ANDERSEN L W, MACKENHAUER J, ROBERTS J C, et al. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels [J]. *Mayo Clin Proc*, 2013, 88(10): 1127-1140. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.06.012.
- [18] GAO C, LI Z Y, BAI J, et al. Involvement of monocarboxylate transporters in the cross-tolerance between epilepsy and cerebral infarction: a promising choice towards new treatments[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 707:134305. DOI:10.1016/j.neulet.2019.134305.
- [19] 郑庆云, 李世昌, 刘中刚. 运动对单羧酸转运蛋白的影响[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(44):155-157.
- [20] BROOKS G A. Cell-cell and intracellular lactate shuttles[J]. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 23): 5591-5600. DOI: 10.1113/jphysiol.2009.178350.
- [21] CONTRERAS-BAEZA Y, SANDOVAL P Y, ALARCON R, et al. Monocarboxylate transporter 4 (MCT4) is a high affinity transporter capable of exporting lactate in high-lactate microenvironments[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(52): 20135-20147. DOI: 10.1074/jbc.RA119.009093.
- [22] EYDOUX N, DUBOUCHAUD H, PY G, et al. Lactate transport in rat sarcolemmal vesicles after a single bout of submaximal exercise[J]. *Int J Sports Med*, 2000, 21(6):393-399. DOI:10.1055/s-2000-3830.
- [23] CHIH C P, ROBERTS E L Jr. Energy substrates for neurons during neural activity: a critical review of the astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(11):1263-1281. DOI:10.1097/01.WCB.000008136.9.51727.6F.
- [24] PELLERIN L. Lactate as a pivotal element in neuron-Glia metabolic cooperation[J]. *Neurochem Int*, 2003, 43(4-5): 331-338. DOI:10.1016/S0197-0186(03)00020-2.
- [25] WADA H, OKADA Y, UZUO T, et al. The effects of glucose, mannose, fructose and lactate on the preservation of neural activity in the hippocampal slices from the Guinea pig[J]. *Brain Res*, 1998, 788(1-2):144-150. DOI:10.1016/S0006-8993(97)01532-1.
- [26] TAKATA T, OKADA Y. Effects of deprivation of oxygen or glucose on the neural activity in the Guinea pig hippocampal slice—intracellular recording study of pyramidal neurons[J]. *Brain Res*, 1995, 683(1): 109-116. DOI: 10.1016/0006-8993(95)00318-K.
- [27] TANAKA M, NAKAMURA F, MIZOKAWA S, et al. Role of lactate in the brain energy metabolism: revealed by Bioradiography[J]. *Neurosci Res*, 2004, 48(1): 13-20. DOI: 10.1016/j.neures.2003.09.001.
- [28] 张换鸽. 神经递质与运动性中枢疲劳[J]. *当代体育科技*, 2012, 2(4):18-20. DOI:10.16655/j.cnki.2095-2813.2012.04.020.

(收稿日期:2021-03-05 修回日期:2021-10-18)

(本文编辑:富群华,张亚菲,张俊彦)

光化学法与线栓法制作局灶性脑梗死大鼠模型的比较研究

娄惠娟¹, 张红石², 王宇峰³, 贾萌⁴, 丛德毓^{1,3}

(1. 长春中医药大学针灸推拿学院, 长春 130117; 2. 长春中医药大学护理学院, 长春 130117; 3. 长春中医药大学附属医院推拿科, 长春 130021; 4. 长春新兴产业光电技术有限公司, 长春 130103)

[摘要] **目的** 本研究探讨光化学法和线栓法两种不同的局灶性脑梗死动物模型制作方法, 通过调控不同实验参数, 分析不同造模方法所致实验动物梗死体积与行为学之间的相关性。**方法** 将64只300~330 g雄性SD大鼠随机分为假手术组、光化学组及线栓法致大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)组, 术后24 h对大鼠进行神经功能评分及行为学测试, 然后麻醉处死取脑组织, 进行2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazole chloride, TTC)染色, 评估大鼠脑梗死体积。**结果** 光化学组和MCAO组SD大鼠脑组织均有体积不等的梗死灶。MCAO模型缺血部位涉及半脑大部分皮质、纹状体、丘脑、海马和脑室下带; 神经功能评分及平衡木实验评分与梗死体积有良好的相关性。光化学法模型梗死灶在大脑皮层; 神经行为异常与皮层梗死位置具有良好的相关性, 与梗死体积之间的相关性相对较差。**结论** 线栓法建立MCAO模型后可观察到动物行为学评分与脑梗死体积密切相关; 光化学法造模产生特定部位的病变和特定的行为变化, 其行为学结果与梗死体积的相关性差。

[关键词] 局灶性脑梗死动物模型; 线栓法; 光化学法; 行为学; 梗死体积

[中图分类号] R-332; R743.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0048-06

Comparative Study on the Presentation Effect of Photochemical Method and Wire Embolization Method for Making Focal Cerebral Infarction Model

LOU Huijuan¹, ZHANG Hongshi², WANG Yufeng³, JIA Meng⁴, CONG Deyu^{1,3}

(1. College of Acupuncture and Tuina, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. School of Nursing, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 3. Department of Tuina, Affiliated Hospital of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130021, China; 4. Changchun New Industry Optoelectronics Technology Co., Changchun 130103, China)

Correspondence to: CONG Deyu, E-mail: congdeyu666@sina.com

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the two different methods of making animal models of focal cerebral infarction by photochemical method and wire embolization method, and to analyze the correlation between infarct volume and behavior of experimental animals due to different modeling methods. **Methods** Totally sixty-four male Sprague-Dawley rats of 300-330 g were randomly divided into three groups: normal group, photochemical group and middle cerebral artery occlusion (MCAO) group. The neurological function scores and behavioral tests on the rats were performed 24 hours after surgery. Then brain tissues were removed by anesthesia and execution, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining was performed to assess the brain infarct volume in rats. **Results** There were different volume infarct foci in the brain of SD rats in photochemical group and MCAO group. In MCAO model, most of the hemispheric cortex, striatum, thalamus, hippocampus and subventricular zone were involved in ischemia, and there were good correlations of neurological function scores and balance beam test scores with infarct

[基金项目] 国家重点研发计划项目: 中风病中医康复理论与结局评价方法研究(2018YFC1706006)

[作者简介] 娄惠娟(1990—), 女, 博士研究生, 研究方向: 中医手法治疗脏腑疾病的临床与作用机制研究。Email: 1240740144@qq.com

[通信作者] 丛德毓(1961—), 男, 教授, 研究方向: 中医手法治疗脏腑疾病的临床与作用机理研究。E-mail: congdeyu666@sina.com

volumes. In the photochemical model, the infarct foci were in cerebral cortex, and the neurobehavioral abnormalities were well correlated with the cortical infarct location, but the correlation with the infarct volume was relatively poor. **Conclusion** In MCAO modeling experiment, the behavioral outcomes closely correlated with infarct volume size, while the photochemical model can produce site-specific lesions and site-specific behavioral changed, and the behavioral outcomes have poor correlation with infarct volume.

[Key words] Animal model of focal cerebral infarction; Wire embolization method; Photochemical method; Behavior; Infarct volume

脑卒中又称中风,是全球人类第二大死亡原因,也是导致人体长期残疾的第一大原因,往往会给社会及患者家庭带来严重的经济负担^[1]。因此,对于脑卒中发生的分子生物学及病理生理学机制的研究非常必要。其中,脑梗死是脑卒中发生的一个主要原因。为了充分认识脑梗死的病理生理机制,探索药物和非药物治疗方法,完成实验研究向临床治疗的转化,近年来研究工作者在不断探索制作更加理想的动物模型^[2-3]。脑梗死发病机制复杂^[4-6],单一的模型通常无法概括脑梗死的发病机制。因此,研究目的不同,往往选择不同的模型。在局灶性脑梗死研究中,最常用的模型是啮齿动物的大脑中动脉线栓模型^[7-9]。同时,光化学模型因其梗死部位可聚焦的特点也被广泛运用^[10-11]。尽管此方面的研究较多,但目前尚没有完全成熟的局灶性脑梗死大鼠模型,并且模型的表型数据也存在较大差异。本实验对比光化学法不同光照时间和激光强度以及线栓法中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)造模时不同缺血时间对脑梗死体积及动物行为学的影响,探讨不同的模型制作方法导致的脑梗死体积及行为学之间的关系,为同类型研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

64只300~330g的雄性Sprague-Dawley (SD)大鼠,SPF级,购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司[SCXK(吉)-2018-0007],饲养在长春中医药大学动物中心[SYXK(吉)2018-0014]。饲养期间各组大鼠自由饮水,饲喂普通维持饲料[由长春市亿斯实验动物技术有限责任公司提供,SCXK(吉)2015-0005]。饲养环境:昼夜各半循环照明,湿度恒定,温度控制在22~25℃。所有实验方案均经长春中医药大学动物伦理审查委员会批准(审批号:IACUC 2020348)。

1.2 实验试剂和仪器

玫瑰红(Rose bengal, 330000-1G)为美国Sigma-Aldrich公司产品;3%戊巴比妥钠(批号140418)为德国默克生物科技公司产品;青霉素G钾盐(P8010-1MU)为北京索莱宝科技有限公司产品。大鼠单臂数字式脑立体定位仪(68003)购自深圳市瑞沃德生命技术有限公司;绿光激光器(MGL-III-532nm-250mW-20040183)购自长春新产业光电技术有限公司;大鼠恒温加热垫、微型手持式颅钻和MCAO线栓(MSRC42B250PK50)购自深圳市瑞沃德生命技术有限公司。

1.3 动物分组

将64只大鼠随机分为A、B、C三大组,9小组。其中A组为假手术组,其中A1组除激光照射外,其他处理同B组;A2组实验过程同C组,但不将线栓插入;每小组4只大鼠。B组为光化学组,其中B1组以30mW/mm²的激光强度照射15min, B2组以30mW/mm²照射30min, B3组以60mW/mm²照射15min;每小组8只大鼠。C组为大脑MCAO组,其中C1组缺血时间为30min, C2组缺血时间为60min, C3组缺血时间为120min(以上3组缺血后再灌注), C4组为永久性梗死(不进行再灌注);每小组8只大鼠。

1.4 光化学法模型建立

大鼠称体质量,按照35mg/kg的剂量腹腔注射3%戊巴比妥钠,麻醉后将大鼠固定于脑立体定位仪,并放置恒温加热垫。沿头部正中中线切开皮肤,暴露颅骨,根据大鼠脑定位图谱选定运动皮质区,用平头颅钻在前囟(Bregma)前1mm和中线左3mm处开直径5mm的骨窗至硬脑膜。尾静脉注射1%玫瑰红(避光条件下临时配制,4℃下低温储存)3mL/kg,静等2min。其间将激光器光纤准直器固定于骨窗上方5mm处,调整光斑在骨窗中央位置^[12],然后调整激光器电流及照射时间^[13-14]。照射结束后局部用青霉素冲洗,缝合伤口,苏醒后放回鼠盒。假手术组大鼠同样进行麻醉,

头部正中中线切开暴露颅骨,尾静脉注射玫瑰红,但不进行激光照射。

1.5 线栓法MCAO模型建立

大鼠称体质量,按照35 mg/kg的剂量腹腔注射3%戊巴比妥钠,麻醉后将大鼠放置于恒温加热垫上。仰卧位固定,颈正中中线进行切口,分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。结扎颈外动脉近心端,夹闭颈总动脉和颈内动脉。在距颈总动脉分叉部5 mm处剪一个小口,通过左侧颈总动脉引入直径为0.38 mm的硅胶层螺旋纹,通过颈内动脉向大脑中动脉插入18 mm左右,局部用青霉素冲洗,缝合颈正中切口,注意线栓尾部留在皮肤外^[15-16]。计时,缺血时间分别为30、60和120 min,达到时间后线栓轻轻拉出,形成再灌注。假手术组大鼠麻醉后,颈部正中切开,分离血管,但不进行线栓插入操作,缝合皮肤。

1.6 Longa神经功能评分

脑缺血再灌注24 h后,评估人员按照Longa神经功能评分法^[17-18]对大鼠进行评分。由3名评估人员采用单盲法进行评分并记录,取3人评分的平均值作为得分。0分,没有神经功能缺损;1分,提尾时前肢屈曲;2分,行走时大鼠向一侧转圈;3分,行走时大鼠身体向一侧(瘫痪侧)倾倒;4分,意识丧失,不能自行行走。

1.7 平衡木行走实验

脑缺血再灌注24 h后,采用平衡木行走实验^[19]测定大鼠的运动整合及协调能力。平衡木长80 cm,宽2.5 cm,平放在距离地面高10 cm处。由3名评估人员采用单盲法进行评分并记录,取3人评分的平均值作为得分。评分标准分6个等级。0分:穿过平衡木,不会跌倒。1分:穿过平衡木,跌倒机会少于50%。2分:穿过平衡木,跌倒机会大于50%。3分:能穿过平衡木,但受累的瘫痪侧后肢不能帮助向前移动。4分:不能穿过平衡木,但可坐在上面。5分:将大鼠放在平衡木上会掉下来。

1.8 TTC染色法测定梗死体积

大鼠完成行为学实验后,立即麻醉并迅速将其断头处死。取完整的大脑,标明组别及编号,放于-20℃冰箱中冷冻15~20 min至大脑稍微变硬。去除嗅球和小脑,然后使用不锈钢脑切片模具把脑组织每隔2 mm切一片,均匀切成4~5个层面。将脑组织切片置于装有2%TTC溶液的6孔板中,37℃恒温箱中避光孵育20 min,其间不时翻动脑使其均匀接触到染色液^[20]。染色完成后拍照,采用Image J图像

处理软件计算梗死灶体积。首先计算每个层面脑片的梗死体积,再将各脑片梗死体积之和乘以厚度(2 mm)即为总的梗死体积。梗死体积占比百分比=梗死体积/全脑体积×100%。

1.9 统计学分析

所有数据均使用GraphPad Prism 8软件分析制图。多组之间比较先进行单因素方差分析,有统计学意义时再用LSD-*t*检验进行组内两两比较。每个样本重复检测3次,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠基本情况及神经系统评分

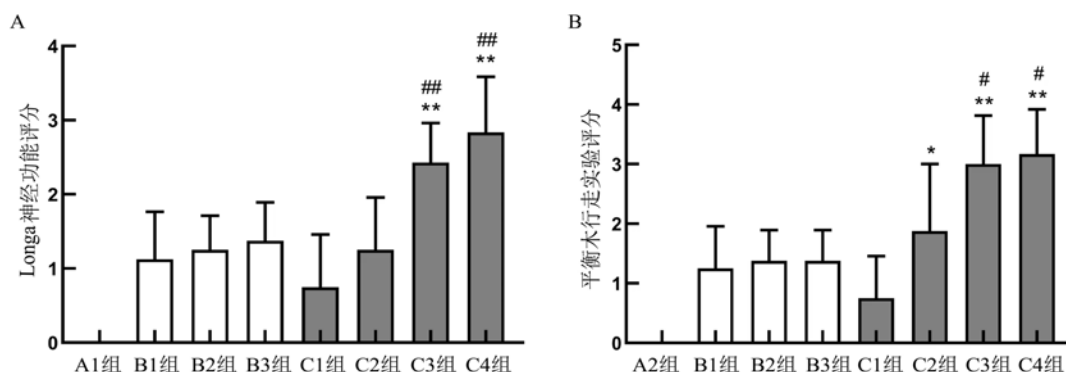
MCAO造模脑缺血再灌注24 h后,C3组大鼠死亡2只,C4组死亡3只;其余组无大鼠死亡。各模型组大鼠精神萎靡,活动及摄食减少。Longa神经功能评分结果(图1A)显示,术后24 h,A组未见神经系统功能缺失,B、C组出现不同程度的分值升高,与A组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);B1、B2和B3组的评分(分别为 1.125 ± 0.641 、 1.250 ± 0.463 、 1.375 ± 0.518)之间无明显差异;C1组和C2组(分别为 0.750 ± 0.707 、 1.250 ± 0.770)之间,以及C3和C4组(分别为 2.429 ± 0.535 、 2.833 ± 0.753)之间也均无明显差异;而C1、C2组和C3、C4组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 平衡木行走实验得分

术后24 h,各组大鼠的平衡木行走实验评分结果(图1B)显示,B、C组大鼠与A组大鼠评分具有明显差异,其中B1、B2、B3组大鼠评分(分别为 1.250 ± 0.707 、 1.375 ± 0.518 、 1.375 ± 0.744)之间未见明显差异;C1和C2组(分别为 0.750 ± 0.707 、 1.875 ± 1.126)之间,以及C2和C3组之间均存在明显差异($P < 0.05$),而C3与C4组(分别为 3.000 ± 0.817 、 3.167 ± 0.753)之间未见明显差异。

2.3 TTC染色梗死体积

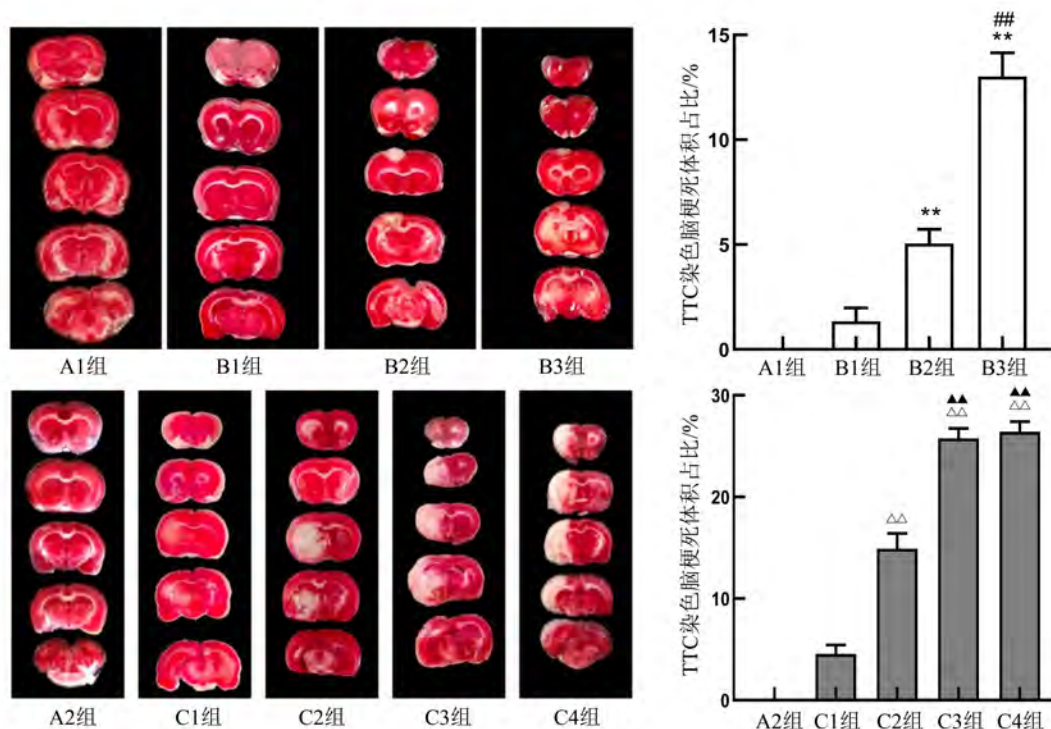
TTC染色后未梗死区为红色,梗死区白色,脑组织中部分部位不能着色(不属于梗死灶)。染色结果(图2)显示,A组大鼠脑组织红染;B、C组大鼠均形成梗死灶,局部脑组织苍白、肿胀明显,其中B组大鼠梗死脑组织冠状面呈“碗型”^[21]。统计分析结果提示,A组未见梗死区域;B1、B2、B3各组大鼠的梗死体积平均占比分别为1.35%、5.05%、13.02%;C1、C2、C3、C4各组大鼠的梗死体积平均占比分别为



注：A组为假手术组，其中A1组除激光照射外，其他处理同B组；A2组实验过程同C组，但不将线栓插入。B组为光化学组，其中B1组为30 mW/mm²照射15 min，B2组为30 mW/mm²照射30 min，B3组为60 mW/mm²照射15 min。C组为线栓法大鼠中动脉阻塞（MCAO）组，其中C1组缺血时间为30 min，C2组缺血时间为60 min，C3组缺血时间为120 min，以上3组缺血后再灌注；C4组为永久性梗死，不进行再灌注。^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ ，与C1组相比；[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ，与C2组相比。

图1 各组大鼠的神经功能评分(A)和平衡木行走实验评分(B)

Figure 1 Neurofunctional score (A) and balance beam score (B) of rats in different groups



注：A组为假手术组，其中A1组除激光照射外，其他处理同B组；A2组实验过程同C组，但不将线栓插入。B组为光化学组，其中B1组为激光强度30 mW/mm²照射15 min，B2组为激光强度30 mW/mm²照射30 min，B3组为激光强度60 mW/mm²照射15 min。C组为线栓法建立大鼠中动脉阻塞（MCAO）组，其中C1组缺血时间为30 min，C2组缺血时间为60 min，C3组缺血时间为120 min，以上3组缺血后再灌注；C4组为永久性梗死，不进行再灌注。^{**} $P<0.01$ ，与B1组相比；^{##} $P<0.01$ ，与B2组相比。^{△△} $P<0.01$ ，与C1组相比；^{△△} $P<0.01$ ，与C2组相比。

图2 光化学法和MCAO法建模的各组TTC染色及定量结果

Figure 2 TTC staining and quantitative results of each group modeled by photochemistry method and MCAO method

4.55%、14.92%、25.76%、26.42%。B、C组与A组梗死体积相比具有明显差异（ $P<0.01$ ）。除C3与C4组间未见明显差异外，其他各组之间梗死体积存在明显差异。

3 讨论

研究表明，临床中多数缺血性脑卒中是由于MCA区域闭塞导致^[22]。因此，Koizumi等^[23]首次使用4-0

尼龙单丝、硅树脂涂层缝合线建立了MCAO模型,该模型被广泛应用于MCAO实验研究。同时,不同线栓制作方法和不同缺血持续时间对MCAO模型的影响相继被研究。另一方面, Watson等^[24]改进了光化学方法并成功诱导了脑梗死动物模型。这种模型的优点是可通过调控不同手术参数来得到不同大小的梗死,并可定位到大脑皮层的不同功能分区。此模型对动物的手术操作简单,成模率和成活率高^[25];但是因为手术操作的调控参数多,需要多组预实验才能取得预期效果。

本研究中,两种模型制作方法均得到了体积及严重程度不等的梗死灶。实验B1组和B2组相比,在激光照射强度相同的情况下,光照时间长短与梗死灶表面严重程度相关,随着时间延长终末动脉梗死逐渐严重,最终形成不可逆损伤;B1组与B3组相比,设置相同的光照时间,随着激光强度的增加梗死灶深度可加深,甚至达到皮层以下而影响纹状体和海马等部位。光照参数稳定的情况下,梗死体积相对能够很快稳定,而且动物行为异常与皮层梗死的位置具有良好的相关性,但与梗死体积之间的相关性相对较差。本研究中两种方法均对大鼠的运动皮层造成了损伤,结果显示各组术后大鼠的平衡木实验评分值均升高,且在不同实验参数下,各组的梗死体积有所变化,而神经功能评分和行为学评分却未见显著差异。

C1、C2、C3组MCAO法建立的脑梗死模型中,总梗死体积以闭塞时间依赖性的方式增加;再灌注24 h后取材情况下,缺血120 min形成的梗死灶与永久性梗死灶的体积未见明显差异,脑缺血面积可达到全脑的26%,缺血部位可涉及半脑大部分皮质、纹状体、丘脑、海马和脑室下带;且MCAO模型的神经功能评分及平衡木实验评分与梗死体积有良好的相关性。

本实验研究利用光化学法和线栓法两种方法建立局灶性脑梗死大鼠模型,比较了行为学评分和TTC染色的组织病理情况,认为线栓法建立的动物模型行为结果与梗死体积大小密切相关,不同程度的梗死体积及行为学异常取决于脑组织缺血时间。因此,通过行为学的观测来预测梗死体积的变化,对于模型的筛选及治疗周期的确立更加便捷有效。相较而言,光化学法建立的动物模型产生特定部位的病变和特定的行为变化,行为学结果与梗死体积的相关性差。光化学模型由于病灶属于终末动脉的梗阻,不可逆并严重导致对神经保护措施不敏感,因此对于远期的运动感觉异常行为观察而言,光化学模型相对稳定。本研究主要

探讨梗死灶与大鼠运动能力之间的关系,未来研究将进一步细化探讨不同的脑梗死体积及位置对大鼠运动障碍、感觉障碍和认知障碍等行为学的影响,为满足不同研究方向所需模型制作提供参考。

【作者贡献】

姜惠娟:设计并完成实验,撰写文章;

张红石:实验数据分析;

王宇峰:参与设计实验,把关实验操作,提供实验资金。

贾萌:光化学造模条件及激光器使用指导,参与实验参数设定。

丛德毓:提出并指导设计方案,审核及修改文章。

【利益声明】所有作者均声明本文不存在利益冲突。

【参考文献】

- [1] HERPICH F, RINCON F. Management of acute ischemic stroke[J]. Crit Care Med, 2020, 48(11):1654-1663. DOI:10.1097/CCM.0000000000004597.
- [2] SOMMER C J. Ischemic stroke: experimental models and reality[J]. Acta Neuropathol, 2017, 133(2):245-261. DOI:10.1007/s00401-017-1667-0.
- [3] SINGH D, WASAN H, REETA K H. Preclinical stroke research and translational failure: a bird's eye view on preventable variables[J]. Cell Mol Neurobiol, 2021: 2021 Mar 30. DOI: 10.1007/s10571-021-01083-6.
- [4] YAN T, CHOPP M, CHEN J L. Experimental animal models and inflammatory cellular changes in cerebral ischemic and hemorrhagic stroke[J]. Neurosci Bull, 2015, 31(6):717-734. DOI: 10.1007/s12264-015-1567-z.
- [5] DURUKAN A, TATLISUMAK T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2007, 87(1):179-197. DOI:10.1016/j.pbb.2007.04.015.
- [6] MCCABE C, ARROJA M M, REID E, et al. Animal models of ischaemic stroke and characterisation of the ischaemic penumbra[J]. Neuropharmacology, 2018, 134(Pt B): 169-177. DOI:10.1016/j.neuropharm.2017.09.022.
- [7] YANG Y, KIMURA-OHBA S, THOMPSON J, et al. Rodent models of vascular cognitive impairment[J]. Transl Stroke Res, 2016, 7(5):407-414. DOI:10.1007/s12975-016-0486-2.
- [8] FLURI F, SCHUHMAN M K, KLEINSCHNITZ C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3445-3454. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
- [9] MACRAE I M. Preclinical stroke research: advantages and disadvantages of the most common rodent models of focal ischaemia[J]. Br J Pharmacol, 2011, 164(4): 1062-1078. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01398.x.
- [10] SHAHI M, ABEDELAHI A, MOHAMMADNEJAD D, et al. Exact location of sensorimotor cortex injury after photochemical modulation; evidence of stroke based on stereological and morphometric studies in mice[J]. Lasers Med Sci, 2021, 36(1): 91-98. DOI:10.1007/s10103-020-03017-y.
- [11] KHATEEB K, YAO Z J, KHARAZIA V N, et al. A practical method for creating targeted focal ischemic stroke in the

- cortex of nonhuman Primates[J]. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc, 2019, 2019: 3515-3518. DOI: 10.1109/EMBC.2019.8857741.
- [12] LIU N W, KE C C, ZHAO Y H, et al. Evolutional characterization of photochemically induced stroke in rats: a multimodality imaging and molecular biological study[J]. Transl Stroke Res, 2017, 8(3):244-256. DOI:10.1007/s12975-016-0512-4.
- [13] 丁惠洁, 刘珂舟, 杨珊珊, 等. 大鼠脑皮层血管栓塞和再生过程的实时动态记录方法[J]. 生理学报, 2019, 71(4): 581-587. DOI: 10.13294/j.aps.2019.0015.
- [14] YAO Z J, YAZDAN-SHAHMORAD A. A quantitative model for estimating the scale of photochemically induced ischemic stroke[J]. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc, 2018, 2018: 2744-2747. DOI:10.1109/EMBC.2018.8512880.
- [15] MA D C, ZHANG N N, ZHANG Y N, et al. Salvianolic Acids for Injection alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by switching M1/M2 phenotypes and inhibiting NLRP3 inflammasome/pyroptosis axis in microglia *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 270: 113776. DOI: 10.1016/j.jep.2021.113776.
- [16] WANG F J, LI R Y, TU P F, et al. Total glycosides of *Cistanche deserticola* promote neurological function recovery by inducing neurovascular regeneration via nrf-2/keap-1 pathway in MCAO/R rats[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 236. DOI:10.3389/fphar.2020.00236.
- [17] XIAO X T, LUO C, YUAN Y, et al. Systematic evaluation during early-phase ischemia predicts outcomes in middle cerebral artery occlusion mice[J]. Neuroreport, 2021, 32(1):29-37. DOI: 10.1097/WNR.0000000000001553.
- [18] TANG Y N, ZHANG G F, CHEN H L, et al. Selective brain hypothermia-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia/reperfusion injury is associated with Fis1 inhibition [J]. Neural Regen Res, 2020, 15(5):903-911. DOI:10.4103/1673-5374.268973.
- [19] GAO B Y, SUN C C, XIA G H, et al. Paired associated magnetic stimulation promotes neural repair in the rat middle cerebral artery occlusion model of stroke[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(11):2047-2056. DOI:10.4103/1673-5374.282266.
- [20] CHEN K H, CHAI H T, CHEN C H, et al. Synergic effect of combined cyclosporin and melatonin protects the brain against acute ischemic reperfusion injury[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 136: 111266. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111266.
- [21] 卢宝全, 尚小明, 杨峰, 等. 应用手持激光器建立光化学法脑梗死动物模型[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(9):63-67, 80, 后插 4. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2012.009.014.
- [22] VITAL S A, GAVINS F N E. Surgical approach for middle cerebral artery occlusion and reperfusion induced stroke in mice[J]. JoVE, 2016(116):54302. DOI:10.3791/54302.
- [23] TAKANO K, TATLISUMAK T, BERGMANN A G, et al. Reproducibility and reliability of middle cerebral artery occlusion using a silicone-coated suture (Koizumi) in rats[J]. J Neurol Sci, 1997, 153(1): 8-11. DOI: 10.1016/s0022-510x(97)00184-6.
- [24] WATSON B D, DIETRICH W D, BUSTO R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis[J]. Ann Neurol, 1985, 17(5): 497-504. DOI: 10.1002/ana.410170513.
- [25] 马浚宁, 高俊玮, 侯博儒, 等. 光化学栓塞法建立缺血性脑卒中动物模型[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(49):7951-7957. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2015.49.014.
- (收稿日期:2021-05-10 修回日期:2021-09-18)
(本文编辑:赵宇朋,张俊彦)

《实验动物与比较医学》有关作者投稿的说明

《实验动物与比较医学》是我国实验动物科学与比较医学领域创刊最早的专业性学术期刊,执行严格的同行评议和二审三校制度。为提高稿件审理效率,以及规范作者投稿行为,本刊加大初审力度。从2021年4月起,作者从本刊官网投稿系统(<http://www.slarc.org.cn/Journalx/authorLogOn.action>)投稿时,均需提供以下必备材料和信息:

1. 所有署名作者的信息,包括最高学历、职称、研究方向、E-mail和电话等,并在文末说明每位作者的贡献情况。
 2. 第一作者单位盖章的论文审查表或介绍信扫描件,需承诺本文符合科研诚信要求。
 3. 涉及动物实验的研究性文章还需提供实验动物的生产许可证和质量合格证、实验场所的实验动物使用许可证、该研究的实验动物福利伦理审查表的扫描件。文中注明以上三证一表的准确编号。
 4. 研究如有基金资助,需提供与本文内容相符的基金立项证明。
- 以上材料请在投稿时作为附件,一并上传本刊投稿系统。对于材料不齐或信息造假的稿件,编辑部将直接退稿。详情可见本刊官网首页的“投稿指南”-“投稿说明”中具体说明。

《实验动物与比较医学》编辑部

缺血性脑卒中动物模型的研究进展

董 波¹, 刘嘉欣¹, 熊 伟², 唐宋琪², 黄 巍¹

(1. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137; 2. 成都岐黄博恩生物科技有限公司, 成都 611130)

[摘要] 缺血性脑卒中是指因脑部血液循环障碍, 缺血、缺氧所致局限性脑组织缺血性坏死或软化, 而出现相应的神经系统功能缺损。该病是导致残疾甚至死亡的主要原因之一, 严重威胁着人类健康。目前治疗缺血性脑卒中仍存在困难。为了研究缺血性脑卒中的发病机制, 更好地预防和治疗缺血性脑卒中, 建立合适的动物模型至关重要。本文针对缺血性卒中动物模型的制备方法及其优缺点进行综述。

[关键词] 缺血性脑卒中; 动物模型; 研究进展

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0054-08

Progress in Animal Models of Ischemic Stroke

DONG Bo¹, LIU Jiaxin¹, XIONG Wei², TANG Songqi², HUANG Wei¹

(1. College of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. Chengdu Qihuang Boen Biotechnology Co., Ltd., Chengdu 611130, China)

Correspondence to: HUANG Wei, E-mail: gracehw@126.com

[ABSTRACT] Ischemic stroke refers to the ischemic necrosis or softening of limited brain tissue caused by cerebral blood circulation disorder, ischemia and hypoxia, resulting in corresponding neurological functional defects. Ischemic stroke is one of the primary causes of human disability, seriously threatens human health, and there is still no effective treatment by now. In order to study the pathogenesis of ischemic stroke and prevent and treat it better, it is very important to establish appropriate animal models. This paper aims to summarize the animal models of ischemic stroke and its advantages and disadvantages.

[Key words] Ischemic stroke; Animal model; Research progress

缺血性脑卒中 (ischemic stroke) 指血栓或栓子阻塞脑血管引起短暂或永久脑血流供应障碍, 脑组织缺血缺氧坏死, 导致神经功能缺损, 产生包括偏瘫、失语、认知和学习能力受损等一系列临床综合征。在所有的卒中病例中, 大约87%属于缺血性脑卒中^[1]。治疗缺血性脑卒中是目前研究的难点之一。为了更好地理解缺血性脑卒中发生的病理生理学机制, 提出合适的治疗策略, 建立符合条件的动物模型必不可少。然而目前尚没有一种动物模型可以完全复制人类缺血性脑卒中的特点和发病进程。

缺血性脑卒中模型与实际病例之间存在差异, 相似于人类缺血性卒中的动物模型对科研及临床工作意义重大^[2-3]。相关研究^[4-6]表明, 建立缺血性脑卒中模型可选动物种类包括非人灵长类动物 (猴、狒狒

等)、啮齿类动物 (小鼠、大鼠、沙鼠等)、非啮齿类动物 (猫、犬、猪、羊等) 3大类。根据研究目标挑选最适宜的动物, 建立与人类缺血性脑卒中最为相仿的疾病模型对于研究缺血性脑卒中疾病发生机制及防治策略具有关键效用。

本文结合文献, 按照动物品种品系、造模时间、造模方法、判定指标对缺血性脑卒中动物模型进行总结, 综合评价各种缺血性脑卒中动物模型的特点, 以供研究者根据实验目的, 选择最恰当的动物模型。

1 缺血性脑卒中动物模型的建立方法

根据缺血性脑卒中的发病部位、病因、诊疗思路及现在研究者的新发现, 对缺血性脑卒中动物模型的常用造模方法及使用的动物总结如图1。具体综述如下。

[基金项目] 国家自然科学基金(82074329)

[作者简介] 董 波 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: 359344243@qq.com;

刘嘉欣 (1992—), 女, 硕士, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: 2574922786@qq.com。*为共同第一作者。

[通信作者] 黄 巍 (1974—), 女, 博士, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 中药方剂配伍理论研究。E-mail: gracehw@126.com

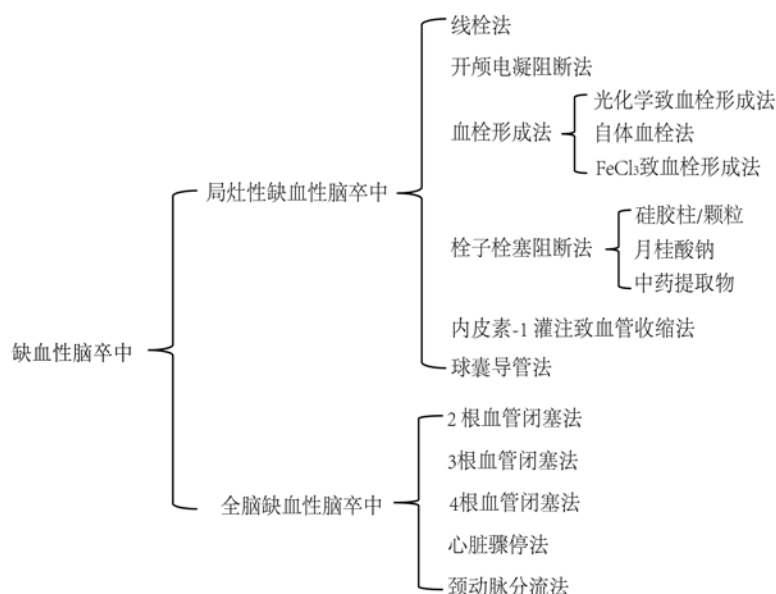


图1 缺血性脑卒中动物模型的常用造模方法

Figure 1 Common modeling methods for animal models of ischemic stroke

1.1 局灶性缺血性脑卒中造模方法

1.1.1 线栓法

1986年, 日本学者 Koizumi 等^[7]发明了线栓法以制备局灶性脑缺血大鼠模型, 基本操作是: 于颈总动脉分叉部或颈外动脉残端插入栓线, 栓线相继经过颈内动脉、大脑后动脉、大脑前动脉起始段; 栓线在插入过程中与颈内动脉结合, 逐渐闭塞颈内动脉血流, 引起大脑中动脉供血区缺血、梗死。1989年, Longa 等^[8]对此模型进行了改良, 其方法为: 先分离并结扎颈外动脉, 同时暂时性结扎颈总动脉, 将颈内动脉进行分离, 剪断颈外动脉, 从颈外动脉靠结扎线的远端做切口, 插入尼龙线使其经过颈总动脉分叉进入颈内动脉, 至有轻微阻力为止, 阻断邻近的大脑中动脉所有血供。目前该方法被认为是局灶性脑缺血模型的标准建立方法, 在国内外得到了广泛运用^[9-10]。线栓法造模的优点在于避免了开颅手术, 可任意控制再灌注时间, 便于实验研究。

1.1.2 开颅电凝阻断法

1981年 Tamura 等^[11]提出电凝法, 即通过外科手术方法灼烧或结扎脑部血管, 造成永久性脑梗死, 不发生再灌注。开颅电凝阻断法的效果稳定, 造模成功率高^[12]。然而其缺点是由于制作模型过程中需打开硬脑膜, 故模型动物大脑可能直接受钻孔器损伤, 或因电凝, 脑部血管受热而受损; 且打开硬脑膜后, 大脑直接暴露于空气中, 颅内压会因局部脑区温度变化受影响^[13]。

1.1.3 血栓形成法

通过形成血栓建立脑缺血模型的方法有3种: 光化学法、自体血栓法和 FeCl_3 致血栓形成法。

1985年 Waston 等^[14]建立了大鼠光化学法脑缺血模型, 其方法为: 选定照射部位, 充分暴露颅骨, 大鼠尾静脉注射玫瑰红 B, 用相应光源进行照射; 部位大小可按照需要调整, 一般选在皮质功能区如运动感觉区^[15-16], 以利于评定观察。此种模型是光化学法诱导皮质局灶性脑缺血的经典模型, 目前已发展为4型^[17]。注入动物体内的光敏染料在特定波长光源照射下, 发生Ⅱ型光化学反应, 产生并释放单态氧, 血管内皮细胞膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应, 膜通透性增加, 血管内皮损害, 诱发血小板聚集, 光照区血管内血栓形成, 使局部脑组织发生不可逆缺血性损伤^[18]。在光敏染料注射早期, 模型动物即可出现血脑屏障开放、严重的血管源性脑水肿及微血管血栓, 因此可用于脑梗死后微血管损伤及血脑屏障改变后的病理生理、生化等研究, 亦可用于抗血小板药物防治研究^[18-21]。但此方法造成皮质终末动脉永久性闭塞, 无法再灌注, 不利于侧支循环建立及缺血再灌注损伤研究; 而且虽有缺血半暗带存在, 但由于范围狭小且消失快, 也不便于观察缺血半暗带变化及研究相关药物的防治作用。

1997年, Busch 等^[22]用自体血凝块经颈动脉注射, 制成大鼠脑栓塞模型。具体方法是: 动物自体血加凝血酶块制成血栓, 导入目标动脉阻断血流, 造成

脑组织缺血。该模型可产生显著而持久的供血中断,形成范围恒定和边界清楚的梗死灶,在确定血栓注入颈内动脉后,造模成功率达80%以上。本模型具有良好的稳定性和可重复性,更贴近临床脑栓塞特征,适合于各种脑缺血实验研究,尤其是溶栓治疗的研究。

FeCl₃致血栓法制成大脑中动脉栓塞的方法是:暴露大脑中动脉,将吸有50% FeCl₃溶液10 μL的小片定量滤纸敷在大脑中动脉上,30 min后取下^[23]。FeCl₃损伤局部大脑中动脉血管内皮,使血管内膜脱落,进而激活血小板,导致局部血栓形成,最终大脑中动脉供血区出现梗塞。此模型出现的神经症状、脑梗死范围等指标与线栓法致大脑中动脉栓塞模型基本接近。

1.1.4 栓子栓塞阻断法

通过注入栓子建立脑缺血模型的方法主要有3种:硅胶柱/硅胶颗粒栓子栓塞阻断法、月桂酸钠法、中药提取物注入法。

1983年,Okada等^[24]发现利用硅胶柱栓子注入大脑中动脉主干可栓塞相应血管,形成可靠、重复性好的犬深部脑梗死模型。张放等^[25]经颈外动脉向颈内动脉注射硅胶颗粒,硅胶颗粒属于微栓子,随血流进入颈内动脉引起脑血管栓塞。此方法可建立基本稳定的脑栓塞动物模型,用于急性脑缺血研究。

尚华等^[26]应用月桂酸钠成功建立兔脑局部缺血模型,其方法是将月桂酸钠溶液注入兔颈内动脉后造成局部脑缺血。月桂酸钠导致血栓的原理是,损伤血管内皮细胞,进而引起血小板粘附聚集。应用月桂酸钠制作局部脑缺血模型能尽量减少脑手术损伤,而且可以避免颅内组织暴露于大气中,颅内环境稳定性并未遭到破坏。该方法中动物可存活较长时间,便于影像动态观察,且具有较高的成功率。

有研究者采用中药白芨及其加工物作为栓塞剂建立大鼠脑缺血模型,其方法为:由颈内动脉注入一定量的白芨微粒悬液或白芨胶,栓子进入颈内动脉-大脑中动脉系统,阻塞大脑中动脉分支及动脉开口^[27-28]。白芨富含黏胶类物质白芨胶,白芨胶由甘露糖和葡萄糖聚合而成,无毒、无抗原,具有促进红细胞积聚、缩短凝血时间及凝血酶原时间的作用,能促进血栓形成^[29-30]。研究资料表明白芨胶或白芨微粒是理想的血管栓塞剂^[31-32]。

1.1.5 内皮素-1灌注致血管收缩法

张世红等^[33]为小鼠脑内埋置一根套管至大脑中动脉附近,通过套管在动物大脑中动脉附近局部微量注射内皮素-1,也可建立局灶性脑缺血模型。内皮素-1

是迄今为止发现的最强的血管收缩因子之一,在体外对血管平滑肌有持久而强的收缩作用。将内皮素-1直接注入活体的脑组织能明显减少局部血流,导致局部组织损伤,因此可用于大脑中动脉周围注射诱导局灶性脑缺血。在大脑中动脉周围注射内皮素-1后,动物可出现明显的神经症状,神经元减少,以及脑水肿和梗死灶。与其他脑缺血模型相比,脑内局部注射内皮素-1可在动物清醒状态下诱导脑缺血,从而直接观察缺血后动物的行为改变,同时可避免线栓法对血管内皮的机械性损伤以及麻醉对脑缺血过程的影响。

1.1.6 球囊导管法

Gao等^[34]利用自制微球囊导管盲插法建立猕猴大脑中动脉闭塞再灌注模型。为提高稳定性和可重复性,郭云良等^[35]经颈总动脉或股动脉介入手术,将标准微球囊导管插入大脑中动脉的起始部,然后充盈微球囊以阻断大脑中动脉血流,退出微球囊后实现大脑中动脉血流再灌注。此方法易于标准化操作,手术成功率高,重复性好,手术过程无需退出球囊即可通过微球囊导管向大脑中动脉注射微量药物,为后续治疗研究提供了有利条件,且可用于其他大型动物,应用前景好。

1.2 全脑缺血性脑卒中造模方法

1.2.1 2根血管闭塞法

通过大鼠双侧颈总动脉永久性阻断建立全脑缺血性脑卒中模型,操作简单,重复性好,常用于慢性全脑缺血研究^[36]。其中,长爪沙鼠的大脑动脉环存在不同程度的缺失,夹闭长爪沙鼠颈总动脉即可获得比大鼠、小鼠更加典型的全脑缺血动物模型^[37]。因此,长爪沙鼠全脑缺血模型已成为研究全脑缺血的理想动物模型。

1.2.2 3根血管闭塞法

田鹤邨等^[38]采用阻断基底动脉和两侧颈总动脉的方法造成全脑缺血,阻断脑主干血管及侧支血管血液供应,造成慢性脑供血不足模型。该方法优点是缺血迅速,效果好,可进行血管再灌注,适用于急性全脑缺血性疾病损伤的研究;而缺点是操作过程中会暴露基底动脉,手术创伤大,手术中对周围组织、神经造成较严重牵拉,同时夹闭基底动脉时易损伤延髓。

1.2.3 4根血管闭塞法

1979年Pulsinelli等^[39]采用夹闭双侧椎动脉及颈动脉的方法,制作了全脑缺血性脑卒中模型。目前,Pulsinelli四血管法建立的大鼠全脑缺血模型已被广泛采用。该模型的缺血效果确切,但存在操作复杂、翼

突孔难寻找、椎动脉阻断困难、术中模型动物易出血和死亡等缺点。

1.2.4 心脏骤停法

靖颖霞^[40]利用呼气末夹闭气管致窒息、3 kg重物压迫胸部、夹闭心底血管丛3种方法致心脏骤停，引起脑血流中断。心脏骤停后造成的突然血流中断对大脑损害严重，脑组织缺血缺氧10 s左右即可出现意识丧失，造成全脑缺血性损伤。

1.2.5 颈动脉分流法

花放等^[41]通过夹闭大鼠双侧颈总动脉，同时经

右颈外动脉持续抽吸颈总动脉内血液，造成大鼠全脑缺血。该方法具有效果可靠、再灌注充分、制备简便、成功率高，并可经颈动脉注入药物等优点，适用于全脑缺血再灌注损伤及其干预措施的实验研究。

2 缺血性脑卒中模型动物的综合评价

不同动物的缺血性脑卒中模型有各自的优缺点，选择合适的模型动物对相关研究极其重要。表1列出了不同方法建立缺血性脑卒中模型的动物选择及评价指标。

表1 缺血性脑卒中模型的动物选择

Table 1 Animal selection of ischemic stroke models

造模方法	模型动物	评价指标
线栓法	SD大鼠、Wistar大鼠、昆明小鼠、新西兰白兔、自发性高血压大鼠	神经功能评分;行为学测试(神经、肌肉运动功能、前庭运动功能);脑组织切片病理形态学观察
开颅电凝阻断法	SD大鼠、BALB/c小鼠、新西兰白兔、巴马香猪、C57BL/6J小鼠	神经功能评分;行为学测试(神经、肌肉运动功能、前庭运动功能);脑组织切片病理形态学观察
光化学致血栓形成法	昆明小鼠、Wistar大鼠、食蟹猴	观察行为学变化;血脑屏障的完整性及梗塞面积观察;HE染色
血栓形成法(自体血栓法)	家犬、Beagle犬、Wistar大鼠、家兔	神经功能评分;脑组织切片病理形态学观察;测定脑组织含水量及梗死体积率
FeCl ₃ 致血栓形成法	新西兰白兔	行为改变;DSA图像表现;TTC染色测定脑梗死范围;脑组织切片病理形态学观察
栓子栓塞阻断法(硅胶柱/硅胶颗粒)	家犬、新西兰白兔	行为学观察;大脑微血管造影;脑组织切片病理形态学观察查
栓子栓塞阻断法(月硅酸钠)	新西兰白兔	CT灌注成像;脑组织切片病理形态学观察
栓子栓塞阻断法(中药提取)	Wistar大鼠	神经功能障碍检查评分;脑组织切片病理形态学观察
内皮素-1灌注致血管收缩法	SD大鼠	神经症状评分;24 h切出脑片,计算大脑半球体积及脑梗死体积;脑片作HE染色,计数存活神经元数
球囊导管法	猕猴	生命体征(体温、呼吸、心率);Task-oriented神经行为功能评分;磁共振扫描和血管成像,计算脑梗塞体积
2根血管闭塞法	SD大鼠、长爪沙鼠	模型动物死亡率、行为学评分;脑组织细胞坏死率、凋亡率、炎症因子;脑组织切片病理形态学观察
3根血管闭塞法	Wistar大鼠	模型动物意识形态、生命体征;脑组织切片病理形态学观察
4根血管闭塞法	SD大鼠、日本大耳白兔、家猫、杂种犬、Wistar大鼠	模型动物生存情况、意识形态;脑组织切片病理形态学观察
心脏骤停法	SD大鼠	脑组织切片病理形态学观察,行免疫组化观察脑内炎症指标
颈动脉分流法	SD大鼠	脑电图检测;瞳孔颜色观察;平均动脉压;脑组织切片病理形态学观察

注:DSA即数字减影血管造影;TCC即2,3,5-氯化三苯基四氮唑。

2.1 大鼠

大鼠脑动脉解剖结构接近人类,神经系统较为发达,颅底动脉环结构完整,与人类脑动脉结构差异小,闭塞后累及额顶背外侧皮层、尾状核和苍白球,部分实验结果显示还波及颞区和梨状区,与人类大脑中动

脉主干闭塞后的病理范围相似。大鼠生命力顽强,抗病力尤其是抗感染能力强,能经受麻醉、外科手术及术后感染的考验,可实现对神经功能缺陷、药物疗效等长期观察;而且同系大鼠间遗传差异小,可保证实验对象的一致性。因此,大鼠是最常用的缺血性脑卒

中模型动物^[42]。

2.2 兔

兔脑动脉由颈内动脉和椎动脉两套血管组成,脑内外循环之间没有网,与人体解剖情况相似。兔大脑中动脉主干阻断后,侧支循环对大脑中动脉供血区的代偿作用很小,有利于建立重复、稳定的脑梗死模型。兔属于中型动物,相对大型动物如犬、猴等成本低、温顺,对手术具有较强耐受性,术后死亡率低,且术后存活时间较长;同时,可通过耳缘静脉注射给药和采血,便于多项生理指标检测或动态观察等后期研究进行。此外,兔的颈部血管粗大,可进行再灌注研究。

2.3 小鼠

小鼠价格低廉,来源丰富,繁殖周期短,适应性强,用小鼠建立模型制作方法简单,生理指标易检测^[43]。但是不同品系小鼠的大脑动脉解剖结构存在差异,这影响小鼠实验结果。而且小鼠性别、体质量等对手术结果也存在影响。另外,相对于大鼠及其他动物,小鼠存在手术耐受性差、操作精细度要求高等问题。

2.4 沙鼠

沙鼠以其独特的脑部构造成为用于筛选脑保护活性成分或脑保护药物的新兴、主流实验动物。从生理结构上讲,90%的蒙古沙鼠颈内动脉与椎底动脉的后交通支缺失,大脑基底动脉环(Willis环)不完善。沙鼠脑缺血模型的制作方法简单,再灌注研究操作方便,近年来在研究脑缺血后脑内各种病理变化机制及药物脑保护作用中得到广泛应用,如脑缺血后神经元的凋亡机制、神经元对缺血的耐受性、再灌注损伤、溶栓治疗时间窗及药物保护作用、药物治疗安全性等领域。利用沙鼠制作的单侧脑缺血再灌注模型是优秀的病理、生理同体对照的缺血性脑卒中模型。夹闭颈总动脉即可实现短暂性脑缺血模型的制作。与其他动物相比,沙鼠具有体质量较轻、给药量较少、手术操作简单、创伤小、成功率高的优势。然而正是因为其独特的生理特点,沙鼠模型的适用范围也较为局限,目前仅用于全脑缺血性脑卒中研究。

2.5 犬

犬为肉食性动物,易于驯养,对手术具有较强耐受性,大脑体积较大,便于手术操作及影像学检查。而且犬的大脑血管分布与人相似,循环系统和神经系统相对较完善,便于脑血管显微外科的研究。其缺点是犬的脑血管变异较大,建模时常导致梗死范围不一致。

2.6 猫

猫属于多脑回动物,皮层发达,在脑血管分布、血流、代谢等方面比非人灵长类动物更接近于人类。其缺点在于猫脑的大部分血液由颈总动脉供应,而人脑主要由颈内动脉及椎动脉供血,这方面与人脑的差异大。

2.7 猪

猪脑解剖结构与人相近,其灰白质的分布及比例、脑形态学发展和神经系统发育的一系列演变也和人脑相似^[44]。猪脑皮质卷积状及新皮层神经元的总数更接近于灵长类动物。猪脑的体积、大小适合活体动物的诱发电位记录、神经外科手术的操作及影像学检测^[45-46]。另外,猪对手术的耐受性及抗感染能力较高。

2.8 猕猴、食蟹猴

非人灵长类动物在体位、行为、运动、感觉、新皮质的比例、脑血管的构筑、非骨性脑膜和右手优势等方面与人类类似,而且脑血管和组织对脑缺血的反应最接近人类脑卒中^[47-48]。但是由于价格昂贵、不易饲养、来源短缺以及存在伦理争议等问题,该类动物的广泛应用受到一定限制。

2.9 其他模型动物

自发性高血压大鼠是目前国际上公认的比较理想的原发性高血压动物模型。高血压是脑卒中的重要危险因素,采用自发性高血压大鼠建立缺血性脑卒中模型能较好地模拟临床实际。随着生物技术研究发展,运用转基因小鼠可以建立全脑缺血模型和局灶性脑缺血模型,并可用于自由基、炎症细胞因子、兴奋性氨基酸受体、载脂蛋白等研究。而且转基因小鼠模型可通过基因操作方法,将相关基因导入受精卵或着床前的胚胎细胞中,使其在脑内特异性表达,为研究某个基因或相关因素在发病机制中的作用提供了可能。

3 缺血性脑卒中动物模型的综合评价

理想的动物模型应结合研究者目的,达到研究者预期效果,与所研究的人类疾病在病理和发展过程相似,同时考虑造模周期、成功率、经济效应等因素^[49-51]。合适的缺血性脑卒中动物模型应当符合下列特征:能控制缺血时间、部位、程度;与缺血性脑卒中相关的因素如血压、血气、体温、血糖等可被控制;避免其他疾病对实验结果产生影响。经过多年发展,目前已建立多种成熟的缺血性脑卒中模型。且随研究者对实验动物模型不断改良,相继出现了重复性高、

病死率低, 具有良好应用前景的新型缺血性脑卒中模型。

3.1 局灶性缺血性脑卒中模型

局灶性脑缺血符合临床上大部分缺血性脑卒中患者的病变类型, 其中85%的缺血性脑卒中是由大脑中动脉引起, 因此大脑中动脉闭塞模型被普遍认为是局灶性脑缺血的标准动物模型。局灶性缺血性脑卒中动物模型是指通过线栓阻断、开颅手术、药物、异物栓塞等外界手段使实验动物大脑缺血缺氧, 从而导致脑卒中。模型动物主要包括大鼠、兔、猫等。动物模型建立时, 线栓法是目前公认的局灶性脑缺血模型的标准建立方法, 其优点是能够精确控制再灌注时间, 可模拟血管内血栓移除, 缺血半暗带明显, 可避免开颅损伤。随着研究进步, 对于线栓的选择范围也在不断改良优化。线栓法建模的缺点主要是不具备可视性, 具有蛛网膜下腔出血风险, 不适用于溶栓研究。开颅法也被认为是较经典的造模方法, 优点是可视性强, 梗死灶形成时间短, 通过阻断大脑中动脉不同部位可对梗死部位和范围实现一定控制; 其缺点是需要开颅, 手术损伤大, 而且容易造成颅内感染。光化学致血栓形成法的优点是梗死灶定位准确, 能保持颅骨完整, 且可通过改变荧光照射部位, 调整照射光圈大小以及照射时间, 从而控制梗死区域及梗死程度; 缺点是会引起血管性水肿, 血脑屏障破坏, 神经功能缺损不明显, 且能自发再灌注。 FeCl_3 致血栓形成法的优点是适用于活体显微技术, 缺点是对重组人组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)敏感性不足, 不适用于神经保护性药物研究。另外, 自体血栓阻塞法建立的梗死模型更接近人类缺血性卒中的病理过程, 缺点是定位不准确, 梗死范围广。

3.2 全脑缺血性脑卒中模型

动脉阻断法(包括2根、3根、4根血管闭塞法)是通过闭塞相关血管, 造成大脑缺氧缺血而致全脑缺血; 其优点是造模成功率高, 指标观察明确简单, 可根据实验需要确定阻断血管时间长短以控制脑缺血程度, 适用于血管再灌注; 缺点是手术难度大且对周围组织牵拉严重, 恢复血流时会受影响。其中, 4根血管闭塞法因其高度模拟人类急性缺血性变化, 缺血后生理指标稳定, 病理改变充分, 因此被认为是迄今为止最理想的全脑缺血动物模型的建立方法; 其缺点是动物存活率相对低, 模型制作有难度, 有时分离不足, 视野受限。大鼠、沙鼠、家兔因其生理特性, 是目前全脑缺血性脑卒中动物模型建立时最常选用的实验动物。

4 展望

人类缺血性脑卒中的发病机制及病理生理学过程尚未明确, 临床上对于缺血性脑卒中仍缺乏有效的治疗措施。脑缺血动物模型的局限性仍是基础研究难以实现向临床转化的主要原因。目前绝大多数脑缺血动物模型仅仅只能模拟缺血性脑卒中机制的一个或几个方面, 尚没有普遍适用的脑缺血动物模型。本文对各种缺血性脑卒中动物模型的制作方法及其优缺点进行了分析阐述, 研究者可根据不同实验目的选择相应的实验动物模型。如何对缺血性脑卒中动物模型进行改进, 使其与临床情况更吻合, 仍是目前医学科研工作者需要解决的难题。需要明确模型动物和人类的种属差异, 通过了解不同脑缺血模型的优势与不足, 选择适合自己研究方向的动物模型, 并在科学技术更新的同时不断对模型进行改良, 更好地实现对并发症的模拟以及对生理学影响因素的控制。因此, 探索出更接近人类卒中发病过程的动物模型迫在眉睫, 这可能会进一步加深人们对于缺血性脑卒中病理机制的认识, 开发出利于转化的药物, 为缺血性脑卒中的治疗开辟新的道路。

[作者贡献]

董波: 提出论文思路, 设计论文内容, 负责论文撰写;
刘嘉欣: 提供论文材料及整理文献资料;
熊伟: 参与选题与设计, 资料分析;
唐宋琪: 提供研究方案, 修订论文;
黄巍: 终审论文, 指导性支持。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] PAUL S, CANDELARIO-JALIL E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: an overview of clinical and preclinical studies[J]. *Exp Neurol*, 2021, 335: 113518. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113518.
- [2] 张昕, 秦冬冬, 尹勇. 啮齿类脑卒中动物模型的建立[J]. *中国康复*, 2018, 33(2): 152-155. DOI: 10.3870/zgkf.2018.02.019.
- [3] 于洋, 朱雨岚. 缺血性脑卒中后血管生成研究的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2021, 30(1): 99-102. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0074.2021.01.26.
- [4] 刘勇, 魏鑫甜, 陈伊. 局灶性脑缺血动物模型的制备探究[J]. *中国中医急症*, 2019, 28(1): 177-180, 185. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2019.01.056.
- [5] 唐青青, 马勋泰. 缺血性卒中后癫痫动物模型的研究进展[J]. *癫痫杂志*, 2020, 6(5): 428-430. DOI: CNKI: SUN: DXZA.0.2020-05-010.
- [6] 王晋晨, 熊晓星. 缺血性脑卒中动物模型研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(10): 1881-1886, 1892. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.10.002.

- [7] KOIZMI J, YOSHID Y, NAKAZAWA T, et al. Experimental studies of ischemic brain edema: A new experimental model of cere-bral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area[J]. *Stroke*, 1986, 16(8):1-8.
- [8] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- [9] SHI K, ZOU M, JIA D M, et al. tPA mobilizes immune cells that exacerbate hemorrhagic transformation in stroke[J]. *Circ Res*, 2021, 128(1):62-75. DOI: 10.1161/circresaha.120.317596.
- [10] HERMANN D M, POPA-WAGNER A, KLEINSCHNITZ C, et al. Animal models of ischemic stroke and their impact on drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(3): 315-326. DOI: 10.1080/17460441.2019.1573984.
- [11] TAMURA A, GRAHAM D I, MCCULLOCH J, et al. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1981, 1(1):53-60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6.
- [12] KOLOSOWSKA N, GOTKIEWICZ M, DHUNGANA H, et al. Intracerebral overexpression of miR-669c is protective in mouse ischemic stroke model by targeting MyD88 and inducing alternative microglial/macrophage activation[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 194. DOI: 10.1186/s12974-020-01870-w.
- [13] CAI B, WANG N. Large animal stroke models vs. rodent stroke models, pros and cons, and combination? [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2016, 121: 77-81. DOI: 10.1007/978-3-319-18497-5_13.
- [14] WATSON B D, DIETRICH W D, BUSTO R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis[J]. *Ann Neurol*, 1985, 17(5): 497-504. DOI:10.1002/ana.410170513.
- [15] LEE J K, PARK M S, KIM Y S, et al. Photochemically induced cerebral ischemia in a mouse model[J]. *Surg Neurol*, 2007, 67(6):620-625; discussion 625. DOI: 10.1016/j.surneu.2006.08.077.
- [16] HOFF E I, BLOKLAND A, RUTTEN K, et al. Dissociable effects in reaction time performance after unilateral cerebral infarction: a comparison between the left and right frontal cortices in rats[J]. *Brain Res*, 2006, 1069(1): 182-189. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.11.070.
- [17] CHEN F, SUZUKI Y, NAGAI N, et al. Rodent stroke induced by photochemical occlusion of proximal middle cerebral artery: evolution monitored with MR imaging and histopathology[J]. *Eur J Radiol*, 2007, 63(1):68-75. DOI: 10.1016/j.ejrad.2007.01.005.
- [18] 马浚宁, 高俊玮, 侯博儒, 等. 光化学栓塞法建立缺血性脑卒中动物模型[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(49): 7951-7957. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2015.49.014.
- [19] UZDENSKY A B. Photothrombotic stroke as a model of ischemic stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(5):437-451. DOI: 10.1007/s12975-017-0593-8.
- [20] LUO H Y, RAHMAN M, BOBROVSKAYA L, et al. The level of proBDNF in blood lymphocytes is correlated with that in the brain of rats with photothrombotic ischemic stroke[J]. *Neurotox Res*, 2019, 36(1): 49-57. DOI: 10.1007/s12640-019-00022-0.
- [21] SEQUEIRA E, PIERCE M L, AKASHEH D, et al. Epicortical brevetoxin treatment promotes neural repair and functional recovery after ischemic stroke[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(7):374. DOI: 10.3390/md18070374.
- [22] BUSCH E, KRÜGER K, HOSSMANN K A. Improved model of thromboembolic stroke and rt-PA induced reperfusion in the rat[J]. *Brain Res*, 1997, 778(1):16-24. DOI: 10.1016/s0006-8993(97)01008-1.
- [23] ARROYO A B, FERNÁNDEZ-PÉREZ M P, DEL MONTE A, et al. miR-146a is a pivotal regulator of neutrophil extracellular trap formation promoting thrombosis[J]. *Haematologica*, 2021, 106(6):1636-1646. DOI: 10.3324/haematol.2019.240226.
- [24] OKADA Y, SHIMA T, YOKOYAMA N, et al. Comparison of middle cerebral artery trunk occlusion by silicone cylinder embolization and by trapping[J]. *J Neurosurg*, 1983, 58(4):492-499. DOI: 10.3171/jns.1983.58.4.0492.
- [25] 张放, 姚振威, 冯晓源, 等. 急性兔脑栓塞模型的建立[J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(6):458-460, 494. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2007.06.014.
- [26] 尚华, 刘怀军, 雷建明, 等. 化学诱导兔脑缺血模型早期 MSCT 灌注成像实验性研究[J]. *河北医药*, 2010, 32(17):2312-2314. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2010.17.002.
- [27] 王俊涛, 田铧, 肖思建, 等. 中药白芨建立大鼠脑缺血模型可行性探讨[J]. *第四军医大学学报*, 2007, 28(3):283-285. DOI: 10.3321/j.issn:1000-2790.2007.03.027.
- [28] 程瑞新, 丁永红, 段承祥, 等. 中药白芨胶体建立急性脑梗塞模型[J]. *上海医学影像*, 2001, 10(1):59-60. DOI: 10.3969/j.issn.1008-617X.2001.01.025.
- [29] 芦金清, 张亚东. 白及胶的实验研究[J]. *中成药*, 1996, 18(12): 2-3.
- [30] 郑传胜, 冯敢生, 张彦舫. 中药白芨胶作为血管栓塞剂的实验研究[J]. *中华放射学杂志*, 1998, 32(3):43-46. DOI: 10.3760/j.issn:1005-1201.1998.03.014.
- [31] 宋善俊, 王辨明, 沈迪, 等. 17 种中草药体外血液凝固筛选实验研究[J]. *武汉医学院学报*, 1977, 6(6):83-86, 89.
- [32] 葛勤, 刘同华, 黄林清. 中药白芨作为血管栓塞剂及药物载体的研究概况[J]. *中国药房*, 2003, 14(5): 49-51. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0408.2003.05.026.
- [33] 张世红, 魏尔清, 朱朝阳, et al. 白三烯受体拮抗剂 ONO-1078 对内皮素-1 诱导的大鼠局灶性脑缺血的保护作用[J]. *药学报*, 2004(1). DOI:10.3321/j.issn:0513-4870.2004.01.001.
- [34] GAO H M, LIU Y Q, LU S P, et al. A reversible middle cerebral artery occlusion model using intraluminal balloon technique in monkeys[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2006, 15(5):202-208. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2006.05.010.
- [35] 郭云良, 高焕民, 李子祥, 等. 对微球囊栓塞大脑中动脉制作猕猴局灶性脑缺血再灌注模型的评价[J]. *解剖学报*, 2008, 39(6):944-947. DOI: 10.3321/j.issn:0529-1356.2008.06.035.
- [36] OHTANI R, TOMIMOTO H, KONDO T, et al. Upregulation of ceramide and its regulating mechanism in a rat model of chronic cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2004, 1023(1): 31-40. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.07.024.
- [37] 周好乐, 杜小燕, 路静, 等. 长爪沙鼠脑底动脉 Willis 环变异缺失遗传特性分析及脑缺血模型高发群体的初步培育[J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(8): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.

- 2011.08.010.
- [38] 田鹤邨, 陈前芬, 谢群. 三血管阻断与重开放造成的大鼠全脑缺血再灌注损伤的实验研究[J]. 蚌埠医学院学报, 1993, 18(2):113-117. DOI: CNKI:SUN:BANG.0.1993-02-019.
- [39] PULSINELLI W A, BRIERLEY J B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat[J]. Stroke, 1979, 10(3):267-272. DOI: 10.1161/01.str.10.3.267.[LinkOut]
- [40] 靖颖霞. 三种心脏骤停大鼠模型心肺复苏效果及脑损伤程度的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012: 45.
- [41] 花放, 丁晓慧, 刘文瑞, 等. 颈动脉负压分流制作大鼠全脑缺血/再灌注模型[J]. 中国实验动物学报, 2001, 9(1): 34-40. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2001.01.006.
- [42] ALIENA-VALERO A, BAIXAULI-MARTÍN J, CASTELLÓ -RUIZ M, et al. Effect of uric acid in animal models of ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2021, 41(4): 707-722. DOI: 10.1177/0271678x20967459.
- [43] GRATE L L, GOLDEN J A, HOOPES P J, et al. Traumatic brain injury in piglets of different ages: techniques for lesion analysis using histology and magnetic resonance imaging[J]. J Neurosci Methods, 2003, 123(2):201-206. DOI: 10.1016/S0165-0270(02)00361-8.
- [44] SAULEAU P, LAPOUBLE E, VAL-LAILLET D, et al. The pig model in brain imaging and neurosurgery[J]. Animal, 2009, 3(8):1138-1151. DOI: 10.1017/s1751731109004649.
- [45] WHITE E, WOOLLEY M, BIENEMANN A, et al. A robust MRI-compatible system to facilitate highly accurate stereotactic administration of therapeutic agents to targets within the brain of a large animal model[J]. J Neurosci Methods, 2011, 195(1):78-87. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.10.023.
- [46] D'ARCEUIL H E, DE CRESPIGNY A J. Imaging stroke evolution after middle cerebral artery occlusion in non-human Primates[J]. Open Neuroimag J, 2011, 5:216-224. DOI: 10.2174/1874440001105010216.
- [47] FLURI F, SCHUHMANN M K, KLEINSCHNITZ C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3445-3454. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
- [48] KAISER E E, WEST F D. Large animal ischemic stroke models: replicating human stroke pathophysiology[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(8):1377-1387. DOI: 10.4103/1673-5374.274324.
- [49] CANDELARIO-JALIL E, PAUL S. Impact of aging and comorbidities on ischemic stroke outcomes in preclinical animal models: a translational perspective[J]. Exp Neurol, 2021, 335:113494. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113494.
- [50] 王丹, 殷梅. 性激素与缺血性脑卒中关系的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(23): 4689-4693. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-2084. 2020.23.020.
- [51] WANG J H, ZHANG P, TANG Z P. Animal models of transient ischemic attack: a review[J]. Acta Neurol Belg, 2020, 120(2): 267-275. DOI: 10.1007/s13760-020-01295-5.
- (收稿日期: 2021-03-09 修回日期: 2021-09-06)
(本文编辑: 富群华, 张俊彦)

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明

本刊是我国实验动物科学与比较医学领域的一本专业学术期刊,严格遵守国家实验动物相关法律、法规和标准,包括但不限于《实验动物管理条例》(2017年3月1日修订版)和《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)等,同时参考借鉴国际生物医学期刊关于动物实验研究报告的相关指南共识(如ARRIVE 2.0、IGP 2012、IAVE Guidelines 2010等)。因此,本刊对所有涉及动物实验的来稿均需审查实验动物福利与伦理相关内容。现将一些具体要求说明如下:

1. 涉及动物实验的来稿,需提供实验动物生产许可证和质量合格证,以及动物实验场所的实验动物使用许可证。以上证明须与使用动物种类及动物实验单位名称相匹配,并在正文中列出其对应的许可证编号。

2. 涉及动物实验的来稿,需在考虑3R(替代、减少和优化)原则的基础上设计动物实验,并提供作者单位实验动物福利伦理委员会(或相关机构)出具的实验动物福利伦理审查批件。批件中所列内容须与投稿文章相吻合,并在正文中列出对应的批准编号。

3. 实验动物的用药,尤其是麻醉镇痛用药必须优先使用药用级麻醉剂,特别是当涉及存活手术的动物实验时。鉴于无法确定非药用级麻醉剂(如三溴乙醇、水合氯醛等)的相关性状及对实验动物的影响,从而不能保障实验动物福利及研究结果的可靠性,而且目前已有更优的市售麻醉药剂可供选择,因此本刊不建议使用上述试剂。如确需使用,请提供充足理由说明及相应的批准文件。

4. 涉及肿瘤动物模型的研究,本刊参考国内及国际通用准则,建议单个肿瘤体直径不超过20 mm(小鼠)或40 mm(大鼠)且不出明显的肿瘤溃疡。如投稿文章有超出上述标准的研究内容,需提交作者单位相关肿瘤动物模型研究的指导原则文件,以及从科学角度判断投稿文章中肿瘤体积合理性的依据材料。

《实验动物与比较医学》编辑部

继发性淋巴水肿动物模型的研究进展

杨 杏¹, 潘兴芳^{1,2}, 赵天易³, 赵美丹^{1,2}, 李忠正^{1,2}

(1. 天津中医药大学实验针灸学研究中心, 天津 301617; 2. 天津中医药大学针灸推拿学院, 天津 301617; 3. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700)

[摘要] 继发性淋巴水肿 (secondary lymphedema, SL) 严重影响着癌症患者的生理和社会心理状况。创建合适的动物模型进行基础研究, 对研究SL的发病机制和治疗方案至关重要。目前SL的动物模型众多, 缺乏统一性, 造成机制研究进展缓慢。本文根据SL动物模型的相关研究进展, 分析了SL研究中实验动物的种类、造模干预方式等。分析结果显示, 啮齿类动物 (特别是大鼠) 是较为理想的实验动物, 通过术前、术后两次放射与手术相结合可制备较为稳定持久的慢性SL模型, 并且在日常的科研工作中得以证实。

[关键词] 继发性淋巴水肿; 动物模型; 放射; 手术

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0062-06

Progress in Animal Models of Secondary Lymphedema

YANG Xing¹, PAN Xingfang^{1,2}, ZHAO Tianyi³, ZHAO Meidan^{1,2}, LI Zhongzheng^{1,2}

(1. Experimental Acupuncture Research Center, Tianjin University of Chinese Medicine Tianjin 301617, China; 2. School of Acupuncture and Massage, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 3. Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Correspondence to: PAN Xingfang, E-mail: panxingfang@163.com

[ABSTRACT] Secondary lymphedema (SL) seriously affects the physiological and psychosocial status of cancer patients. The establishment of appropriate animal models for basic research is crucial to study the pathogenesis and treatment of SL. At present, there are many animal models of SL, but the lack of uniformity results in slow progress of mechanism research. Based on the research progress of SL animal models, this paper analyzes the types of experimental animals and the intervention methods of modeling in SL research. The analysis results showed that rodents (especially rats) are ideal experimental animals, and a stable and durable chronic SL model can be prepared by combining surgery with two times of preoperative and postoperative radiation, which has been confirmed in daily scientific research work.

[Key words] Secondary lymphedema; Animal model; Radiation; Surgery

继发性淋巴水肿 (secondary lymphedema, SL) 是由于癌症、放射治疗、慢性静脉功能不全、手术、外伤或感染所导致的淋巴系统阻塞或破坏引起的疾病^[1-2]。SL的发病原因复杂, 发病机制尚未完全明确, 因此治疗手段局限, 无法有效治愈^[3]。其中, 手术和放射治疗是SL最常见的原因。继发于手术及放射治疗的淋巴水肿可能是在淋巴系统损伤后, 富含大量蛋白质的淋巴液由于回流受阻滞留于组织间隙, 导致组织间隙的胶体渗透压升高、血管内外渗透压差减小, 使得大量液体从毛细血管进入组织间隙, 从而形成高蛋

白性水肿。而淋巴液中蛋白质等物质进一步刺激结缔组织异常增生, 出现胶原沉积, 导致皮下组织逐渐纤维化, 加重淋巴水肿程度^[4-5]。尽管针对SL的研究不断深入, 但该疾病动物模型复杂多样, 缺乏规范性, 限制了其病理机制的深入探讨。创建稳定的能较好模拟临床特征的继发性淋巴水肿动物模型是目前亟待解决的问题。

SL模型最早见于19世纪^[6], 是以犬类为模型动物, 由于技术条件的限制, 多产生急性淋巴水肿, 难以形成慢性继发性淋巴水肿。随后, 研究人员又建立

[基金项目] 天津市自然科学基金 (18JCYBJC94100)

[作者简介] 杨 杏 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 针灸基础与临床转化研究。E-mail: yangxing0716@163.com

[通信作者] 潘兴芳 (1969—), 女, 医学硕士, 副教授, 研究方向: 针灸临床转化、循证医学、针灸基础研究。E-mail: panxingfang@163.com

了几种不同动物的SL模型，包括大鼠、小鼠、兔、猴等。目前，手术与放射技术相结合是建立SL模型较常用的方法，但不同动物的放射剂量和放射时机会有差异，且操作部位常有不同，如啮齿类动物常用后肢和尾部，兔类动物常用耳朵和后肢部位，犬和猴类常用后肢。

本文从实验动物种类和造模干预方法两方面，对2000年至今发表的SL动物模型相关的主要研究进展进行综述。

1 常用于构建继发性淋巴水肿模型的动物

1.1 啮齿类

啮齿类动物是常用实验动物。啮齿类动物与人类基因水平高度同源，其免疫力及对外界环境的适应力强，存活率高^[7]，且价格低廉，易繁殖。研究人员常在啮齿类动物的后肢^[8-10]和尾部^[11-12]进行造模。也有学者认为，大鼠因淋巴结构分明而常被用于SL实验，适用于研究人类SL^[13]。

1.2 犬

犬的淋巴系统在淋巴管的数量、大小和深浅层次排列分布方面，与人类淋巴系统有着显著的相似性^[14]。犬类动物体型较大，后肢血管和淋巴管口径较粗，因而其器官与组织方便后期实验标本的观察与统

计，尤其适用于显微淋巴外科的应用及研究。目前，多使用犬类四肢进行造模^[15]。

1.3 兔

兔的淋巴系统可以分为耳前、下颌下、侧颈根、腋窝、腰椎、腹股沟、尾根和腠区这8个区域^[16]，每个区域都分布各自的淋巴管和淋巴结。目前，常用兔类在耳部制备SL动物模型。同时，兔也常被用于研究淋巴结移植等方面的相关实验^[17]。

1.4 猪

猪的淋巴系统包含7个淋巴体：腮腺、下颌、颈背、颈腹侧、髂下、腹股沟和腠区。由于浅表腋窝区域不存在淋巴结，因此猪不适用于建立乳腺癌相关SL模型^[18]。

2 常用的建模方法

在建立SL动物模型过程中有许多不同的造模方式，主要有单纯手术、手术与放射技术相结合这两种方法。目前为止，尚没有完善的SL动物模型。本文分析已有文献并总结经验，以便于之后开展相关研究。

2.1 手术方法

单纯通过手术建立SL动物模型的方法主要是破坏淋巴结和淋巴管。下面基于动物种类进行分类叙述（表1）。

表1 通过手术干预建立的常见SL模型

Table 1 Common secondary lymphedema model established by surgical intervention

文献来源	动物	方式	部位	手术操作	持续时间
Hassanein等 ^[11] (2021)	小鼠	手术	尾部	全层切除和淋巴管夹断	超过15 d
Weiler等 ^[12] (2019)	小鼠	手术	尾部	单血管结扎	70 d
Randolfo等 ^[23] (2018)	兔	手术	耳部	全皮肤剥脱和破坏淋巴通道	15 d
Tobbia等 ^[24] (2009)	羊	手术	后肢	切除淋巴结，结扎淋巴管	16周

2.1.1 鼠的手术造模方法

鼠类最常用尾部操作。鼠尾部SL模型涉及所有真皮水平初始淋巴管的圆周结扎，手术方法简便，成模率高。该方法将鼠尾部近端皮肤通过圆周切口切开，并对染色的集合淋巴管进行烧灼以破坏尾部淋巴管，但这种方式可能会导致尾部坏死和早期的尾部肿胀消退^[11]。研究证实，鼠尾部术后损伤的淋巴管生长和重塑为SL的生物学研究提供了稳定有效的基础^[19-21]。但是不同于人类肢体，鼠尾大部分是由表皮和软骨构成^[22]，因而鼠尾部SL模型可能与人类肢体淋巴水肿无相似性。这一点限制了其临床应用转化。

2.1.2 兔的手术造模方法

使用兔耳构建SL模型也是常用方法。将兔耳全皮

肤剥脱和破坏淋巴通道后，约15 d后出现肿胀。这种造模方式耗时短，易复制。兔耳部SL模型是研究淋巴水肿治疗新方法的可重复替代方案^[23]。

2.1.3 大型动物的手术造模方法

大型动物SL模型与人类疾病模式具有较大的相似性，且淋巴引流系统单一，较为清晰。在这类模型中，清扫四肢淋巴结是诱导淋巴水肿的主要方式。Tobbia等^[24]采用绵羊作为实验对象，通过手术缝合淋巴管，并切除单个腠淋巴结；但是在淋巴结切除后的12~16周，大约有80%的绵羊淋巴功能得以恢复，难以形成慢性SL。这说明单纯通过手术的方法切除绵羊腋窝淋巴结后，会出现淋巴管再生的情况，影响模型的制备。Olszewski等^[25]通过切除犬后肢上部皮肤、皮下组织、

筋膜和股骨骨髓，并横断主要的淋巴管来实现淋巴水肿。尽管犬较绵羊切除了更多的组织，但是最终仅有三分之一的犬发生慢性SL。

综上，虽然通过手术方法进行SL模型制备十分常见，但是研究发现仅通过手术切除淋巴管后制备的动物模型，伤口范围大、创伤深所导致的炎症反应会使周围组织释放促淋巴管新生因子，如血管内皮生长因子C（vascular endothelial growth factor C，VEGF-C），激活干细胞和淋巴管内皮祖细胞，使其分化增殖，进而促进淋巴管新生，这一过程会对SL动物模型的制备产生影响^[26]。另外，手术方法的差异性会导致水肿高峰出现时间不一致，且多产生急性SL，难以持续。因此，单纯通过手术方法进行造模时需要克服一些关键问题，如SL生成的不确定性、高并发症发生率、缺少

诱导淋巴水肿的诊断标准等^[27]。

2.2 手术与放射相结合

在临床中，SL的发生多数是癌症手术放化疗后损伤淋巴系统所致^[2]。为了更好地模拟临床手术与放射治疗相结合的情况，淋巴清扫术后联合放射技术破坏术后残余淋巴管以抑制淋巴再生和侧支循环，这种方法更能构建符合人类SL的状态。但是这种建模方式不仅需要选择合适的放射时机，而且需要考虑放射剂量的问题。对此，研究人员进行了一系列实验，但是不同的动物可以采取的最佳放射剂量仍需要继续摸索、验证。

现笔者从动物种类、放射时机及放射剂量等方面进行论述，总结文献中常见的手术与放射结合SL模型，见表2。

表2 通过手术与放射结合建立的常见SL模型
Table 2 Common secondary lymphedema model established by surgery combined with radiation

文献来源	动物种类	方式	部位	手术操作	放射剂量	持续时间
Harb等 ^[8] (2020)	大鼠	手术和放射	后肢	腹股沟淋巴结切除术、圆周皮肤和皮下组织切除术	22.7 Gy/40.5 Gy	未报告
Triacca等 ^[10] (2019)	大鼠	手术和放射	后肢	手术切除腋窝和腹股沟淋巴结	22.7 Gy	至少8周
Sommer等 ^[21] (2012)	大鼠	手术和放射	后肢	切除体表腹股沟和腋窝淋巴结及邻近淋巴管	15 Gy	未报告
孙一字,等 ^[29] (2016)	小鼠	手术和放射	后肢	摘除腋窝淋巴结,结扎淋巴管,烧灼皮肤	4.5 Gy	24周
吴国君 ^[34] (2017)	猕猴	手术和放射	上肢	腋窝淋巴结清扫术	30 Gy	12个月
柴凡,等 ^[32] (2011)	兔	手术和放射	前肢	切除右侧腋窝、胸肌外缘及锁骨下淋巴结,破坏淋巴管	15 Gy	18周

2.2.1 放射时机

在手术与放射技术相结合的方法中，动物的四肢是最常采用的部位，其中放射的时机和剂量十分重要。在放射时机方面，Das等^[28]以犬后肢作为模型基础，在腹股沟进行结缔组织、肌肉筋膜和深部淋巴管切除后，将犬分为两组，在相同放射剂量的情况下，分别进行术前放射和术后放射。结果显示，术前放射组在术后4~6周所有存活的犬均发展出SL，并持续至少12个月，而术后放射组结果不甚理想。研究人员认为，术前放射更容易破坏真皮淋巴结，构建的淋巴水肿动物模型更为持久且成功率较高，因此术前放射组优于术后放射组。但也有学者认为，术前放射或术后放射均对SL模型的制备没有影响。孙一字等^[29]通过调整手术时机，将小鼠随机分为3组：术前放疗组、术后放射组、术前及术后放射组。结果显示，这3组均成功构建了小鼠后肢SL模型，但以术前及术后放射组效果更优，SL持久，同时小鼠死亡和发生SL并发症的概率较低。以上三组均选择术前3 d和术后2周放射，剂

量为4.5 Gy。综上所述，以手术与放射技术相结合的方式建立SL模型时，放射时机上存在争议，可能术前及术后联合放射的方式更合适。

2.2.1 放射剂量

在放射剂量方面，根据动物种类的差异性，所适用的放射剂量也不同。

目前采用手术与放射技术相结合的方法制备SL模型时最常用的是啮齿类动物。有研究者通过实验研究发现，不同的放射剂量对实验动物的影响差异性较大。Sommer等^[21]尝试在12只雌性大鼠的后肢诱导SL：手术切除大鼠右后肢的腹股沟浅淋巴结、腋窝淋巴结和邻近淋巴管，术后7 d在右腹股沟施以单剂量15 Gy的放射，放射后4周处死动物。经过磁共振成像技术观察水肿程度，除去在磁共振成像采集过程中因摆放位置不可观察的4只大鼠外，剩余大鼠中有87%成功构建了SL模型。Yang等^[30]将雄性大鼠分为4组，在术后分别施以20、30、40 Gy剂量的放射，其中接受20 Gy放射剂量的大鼠建模成功率为81.5%，放射剂量在

30~40 Gy的大鼠建模成功率约37%~50%，同时出现严重的并发症和较高的死亡率；通过选择合适的手术部位并结合适当的放射剂量，其产生的下肢淋巴水肿可以长达4个月。大鼠较为合适的放射剂量约为25~35 Gy，这样制备的SL动物模型并发症少，死亡率低，水肿持续时间长。Jørgensen等^[31]在研究雄性小鼠后肢SL的实验中，将小鼠后肢皮肤环状切开，切除淋巴结并结扎淋巴管，然后分别在术前7 d及术后3 d施以7.5、10、15和30 Gy不同剂量的放射。结果显示，低剂量放射小鼠在术后出现急性期水肿，但未持续；而较高剂量放射虽可诱发持续的SL，但容易出现并发症；术前、术后10 Gy组的小鼠在1周后逐渐成功地诱导出SL，并且未出现严重的肢端坏死等并发症。最后建议用小鼠建立SL模型时适合的放射剂量约为4.5~10 Gy。另外，由于制备方式简便，鼠尾部常用于创建SL动物模型，但是鼠尾部可能不适用于制备慢性SL动物模型。

基于兔类后肢的SL造模相对较少。柴凡等^[32]将雄性日本大白兔分为手术组、放射组及联合组。手术组切除右侧腋窝、胸肌外缘及锁骨下淋巴结，并结扎破坏全部可见淋巴管；放射组取剂量15 Gy的 γ 射线进行照射；联合组则是以同样的手术方式结合术后7 d以相同的剂量放射。最终放射组不能成功构建模型，而手术组建模成功率约75%，联合组的成功率达100%。侯传强等^[33]应用手术联合术后一次性大剂量射线照射的方法，于兔后肢做环形切口并切除皮肤、皮下组织达肌肉，清扫腹股沟区淋巴结，镜下分离与股部血管和神经伴行的深部淋巴管并将两端结扎，术后3 d给予20 Gy剂量照射手术野。3个月后兔开始出现渐进性的肢体水肿，约5个月形成稳定的兔后肢慢性SL模型。手术联合术后一次性大剂量放射的造模方式成功率约为83%，但一次性大剂量（20 Gy）放射容易导致肢端坏死等并发症，因此兔类后肢使用的放射剂量建议在15~20 Gy较合适。另外，在相同剂量的情况下，还应该进一步研究单次放射与分批次放射的效果。

吴国君^[34]使用健康雌性猕猴模拟实施人类腋窝淋巴结清扫术。分别于术前2周及术后4周联合使用放射技术对动物腋窝区域进行放射以破坏残存的淋巴管，放射剂量为30 Gy，成功诱导猕猴上肢产生SL，并持续存在24个月。虽然猕猴等灵长类动物与人类生理、解剖和遗传等因素极其相近，但是由于成本较高，目前尚缺少大样本研究，且使用猴类的SL相关研究较少。

综上，放射剂量的高低对模型的成功制备十分重要，剂量过高容易导致许多不可预估的并发症，如肢端坏死等，而剂量过低则达不到抑制淋巴再生和侧支循环的效果。在大鼠后肢构建SL模型较为常见，制备方式简便，技术比较成熟，成功率较高。

3 总结及展望

目前临床上尚无能治愈SL的有效方法，其治疗效果不佳的主要原因是SL发病机制研究不清。建立规范可靠的动物模型可有力地推动疾病发生发展机制的研究。本文从实验动物种类、造模干预方法等方面对目前已有的SL动物模型进行分析，发现在啮齿类、犬、兔、猪等常见的实验动物中，啮齿类是最常用的动物模型。其中，建立大鼠SL模型常采用手术与放射技术相结合的方法，放射总剂量为25~35 Gy。由于放射干预3 d后，淋巴组织开始损伤，术后2周残余的淋巴管新生，因此在术前3 d和术后2周进行放射是破坏淋巴系统较佳的放射时机^[35]。大鼠后肢SL动物模型的构建成功率高，效果持久且并发症较少。小鼠常通过手术方法进行尾部环切以建立SL动物模型，但是小鼠尾SL模型与人类淋巴水肿的差异较大，使其应用受到了一定限制。兔类SL模型同样适用于研究人类淋巴水肿相关性疾病，常采用耳部和四肢进行造模；但由于兔耳部与人类淋巴水肿部位在解剖学上存在差异，因此兔耳部SL模型也具有一定的缺陷。而且兔相较于啮齿类动物价格昂贵，从经济效益方面考虑，目前较少使用。另外，依据目前的造模方法分析，单纯的手术方法虽然可以成功制备急性SL动物模型，但是需严谨分析手术部位及切除部分。而手术与放射技术相结合进行SL建模是目前常用的方法，通过手术破坏淋巴结和淋巴管，联合放射技术破坏残余淋巴管，并抑制术后可能发生的自发性淋巴管再生。然而采用手术及放射技术联合的方式耗费时间过长，在价格方面也相对昂贵。

目前在制备SL动物模型的过程中，还存在一些缺陷，例如：测量肿胀程度的方法，目前主要是排水法和软尺测量法，均存在主观性；关于大鼠后肢SL模型的报告较多，而前肢造模无报告。在临床上，乳腺癌是造成上肢淋巴水肿的主要原因之一，患者在完成乳腺癌淋巴清扫术和放射治疗后，多数患者会出现上肢SL。因此，为了能更好地模拟临床上肢SL的状态，笔者认为，建立大鼠前肢SL模型对于乳腺癌相关淋巴水肿的研究可能具有重要价值和意义。

[作者贡献]

杨杏: 提出文章思路, 撰写并修改文章;

潘兴芳: 对文章思路有重要建议, 检查文章中语句词汇并最终定稿;

赵天易: 文章框架修改, 对文章的思路有重要建议;

赵美丹: 文章框架及内容修改;

李忠正: 参与论文章修改。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] SZOLNOKY G, DOBOZY A, KEMÉNY L. Towards an effective management of chronic lymphedema[J]. *Clin Dermatol*, 2014, 32(5):685-691. DOI:10.1016/j.clindermatol.2014.04.017.
- [2] PASKETT E D, DEAN J A, OLIVERI J M, et al. Cancer-related lymphedema risk factors, diagnosis, treatment, and impact: a review[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(30):3726-3733. DOI:10.1200/JCO.2012.41.8574.
- [3] SUNG C, WANG S, HSU J, et al. Current understanding of pathological mechanisms of lymphedema[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2021: 2021 Nov 25. DOI: 10.1089/wound.2021.0041.
- [4] 朱雅群. 乳腺癌患者治疗后上肢淋巴水肿发病情况及危险因素的临床研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2015.
- [5] KATARU R P, WISER I, BAIK J E, et al. Fibrosis and secondary lymphedema: chicken or egg? [J]. *Transl Res*, 2019, 209:68-76. DOI:10.1016/j.trsl.2019.04.001.
- [6] KANTER M A, SLAVIN S A, KAPLAN W. An experimental model for chronic lymphedema[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1990, 85(4):573-580. DOI:10.1097/00006534-199004000-00012.
- [7] REFINETTI R, KENAGY G J. Diurnally active rodents for laboratory research[J]. *Lab Anim*, 2018, 52(6): 577-587. DOI: 10.1177/0023677218771720.
- [8] HARB A A, LEVI M A, CORVI J J, et al. Creation of a rat lower limb lymphedema model[J]. *Ann Plast Surg*, 2020, 85(S1 Suppl 1): S129-S134. DOI:10.1097/SAP.0000000000002323.
- [9] AKSOYLER D, BITIK O, MENKU OZDEMIR F D, et al. A new experimental lymphedema model: reevaluating the efficacy of rat models and their clinical translation for chronic lymphedema studies[J]. *Ann Plast Surg*, 2021, 86(6): 707-713. DOI:10.1097/SAP.0000000000002479.
- [10] TRIACCA V, PISANO M, LESSERT C, et al. Experimental drainage device to reduce lymphoedema in a rat model[J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2019, 57(6):859-867. DOI:10.1016/j.ejvs.2018.04.014.
- [11] HASSANEIN A H, SINHA M, NEUMANN C R, et al. A murine tail lymphedema model[J]. *Vis Exp*, 2021: 168. DOI: 10.3791/61848.
- [12] WEILER M J, CRIBB M T, NEPIYUSHCHIKH Z, et al. A novel mouse tail lymphedema model for observing lymphatic pump failure during lymphedema development[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):10405. DOI:10.1038/s41598-019-46797-2.
- [13] SUAMI H, SCAGLIONI M F. Lymphatic territories (lymphosomes) in the rat: an anatomical study for future lymphatic research[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2017, 140(5):945-951. DOI:10.1097/PRS.0000000000003776.
- [14] SUAMI H, SHIN D, CHANG D W. Mapping of lymphosomes in the canine forelimb: comparative anatomy between canines and humans[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2012, 129(3):612-620. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3182402c6d.
- [15] CHEN H C, PRIBAZ J J, O'BRIEN B M, et al. Creation of distal canine limb lymphedema[J]. *Plast Reconstr Surg*, 1989, 83(6): 1022-1026. DOI:10.1097/00006534-198906000-00016.
- [16] SOTO-MIRANDA M A, SUAMI H, CHANG D W. Mapping superficial lymphatic territories in the rabbit[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2013, 296(6):965-970. DOI:10.1002/ar.22699.
- [17] FERNÁNDEZ PEÑUELA R, CASANÍ ARAZO L, MASIÁ AYALA J. Outcomes in vascularized lymph node transplantation in rabbits: a reliable model for improving the surgical approach to lymphedema[J]. *Lymphat Res Biol*, 2019, 17(4):413-417. DOI: 10.1089/lrb.2018.0038.
- [18] ITO R, SUAMI H. Lymphatic territories (lymphosomes) in swine: an animal model for future lymphatic research[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 136(2): 297-304. DOI: 10.1097/PRS.0000000000001460.
- [19] TERVALA T V, HARTIALA P, TAMMELA T, et al. Growth factor therapy and lymph node graft for lymphedema[J]. *J Surg Res*, 2015, 196(1):200-207. DOI:10.1016/j.jss.2015.02.031.
- [20] JIN D P, AN A, LIU J, et al. Therapeutic responses to exogenous VEGF-C administration in experimental lymphedema: immunohistochemical and molecular characterization[J]. *Lymphat Res Biol*, 2009, 7(1):47-57. DOI: 10.1089/lrb.2009.0002.
- [21] SOMMER T, MEIER M, BRUNS F, et al. Quantification of lymphedema in a rat model by 3D-active contour segmentation by magnetic resonance imaging[J]. *Lymphat Res Biol*, 2012, 10(1):25-29. DOI:10.1089/lrb.2011.0010.
- [22] STASZYK C, BOHNET W, GASSE H, et al. Blood vessels of the rat tail: a histological re-examination with respect to blood vessel puncture methods[J]. *Lab Anim*, 2003, 37(2): 121-125. DOI:10.1258/00236770360563750.
- [23] FERNÁNDEZ PEÑUELA R, PONS PLAYA G, CASANÍ ARAZO L, et al. An experimental lymphedema animal model for assessing the results of lymphovenous anastomosis[J]. *Lymphat Res Biol*, 2018, 16(3): 234-239. DOI: 10.1089/lrb.2016.0068.
- [24] TOBBIA D, SEMPLE J, BAKER A, et al. Lymphedema development and lymphatic function following lymph node excision in sheep[J]. *J Vasc Res*, 2009, 46(5): 426-434. DOI: 10.1159/000194273.
- [25] OLSZEWSKI W. Induction of experimental lymphatic edema [J]. *Pol Przegl Chir*, 1967, 39(9):926-929.
- [26] JOSEPH W J, ASCHEN S, GHANTA S, et al. Sterile inflammation after lymph node transfer improves lymphatic function and regeneration[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2014, 134(1):60-68. DOI:10.1097/PRS.0000000000000286.
- [27] FRUEH F S, GOUSOPOULOS E, REZAEIAN F, et al. Animal models in surgical lymphedema research: a systematic review[J]. *J Surg Res*, 2016, 200(1): 208-220. DOI: 10.1016/j.jss.2015.07.005.
- [28] DAS S K, FRANKLIN J D, O'BRIEN B M, et al. A practical

model of secondary lymphedema in dogs[J]. Plast Reconstr Surg, 1981, 68(3):422-428.

[29] 孙一字, 崔春晓, 戴婷婷, 等. 改良小鼠后肢淋巴水肿模型的构建[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2016, 12(6):349-352. DOI:10.3969/j.issn.1673-0364.2016.06.005.

[30] YANG C, NGUYEN D H, WU C W, et al. Developing a lower limb lymphedema animal model with combined lymphadenectomy and low-dose radiation[J]. Plast Reconstr Surg Glob Open, 2014, 2(3): e121. DOI: 10.1097/GOX.000000000000064.

[31] JØRGENSEN M G, TOYSERKANI N M, HANSEN C R, et al. Quantification of chronic lymphedema in a revised mouse model[J]. Ann Plast Surg, 2018, 81(5): 594-603. DOI: 10.1097/SAP.0000000000001537.

[32] 柴凡, 梁燕, 姜军. 动物前肢淋巴水肿模型构建的实验研究[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2011, 5(4): 466-473. DOI: 10.3969/j.issn.1674-0807.2011.04.011.

[33] 侯传强, 金星, 吴学君, 等. 慢性肢体淋巴水肿动物模型的构建[J]. 泰山医学院学报, 2012, 33(9): 651-653. DOI: 10.3969/j.issn.1004-7115.2012.09.003.

[34] 吴国君. 腋窝淋巴结清扫术后上肢继发性淋巴水肿动物模型建立的实验研究[D]. 济南: 山东大学, 2017.

[35] CONGDON C C. The destructive effect of radiation on lymphatic tissue[J]. Cancer Res, 1966, 26(6):1211-1220.

(收稿日期: 2021-04-12 修回日期: 2022-11-30)
(本文编辑: 姜怡欣, 张俊彦)

《实验动物与比较医学》常用英文缩略词表

英文缩略词	英文全称	中文全称(备注)
WHO	World Health Organization	世界卫生组织
FDA	Food and Drug Administration	食品药品监督管理局(美国)
SPF	specific pathogen-free	无特定病原体(动物饲养条件)
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
CT	computerized tomography	计算机体层摄影[术]
MRI	magnetic resonance imaging	磁共振成像
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附测定
CCK-8	cell counting kit-8	细胞计数试剂盒-8
MTT	thiazolyl blue	噻唑蓝(细胞增殖活性检测试剂)
BCA	bicinchoninic acid	二辛可宁酸(蛋白浓度测定试剂)
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
SDS	sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
DMSO	dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid	乙二胺四乙酸
SP	streptavidin-peroxidase	链霉抗生物素蛋白-过氧化物酶
HE	hematoxylin and eosin (staining)	苏木精-伊红[染色]
DAB	3,3'-diaminobenzidine	二氨基联苯胺[显色]
ddH ₂ O	distillation-distillation H ₂ O	双蒸水
PBS	phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲溶液
PBST	phosphate buffered saline with Tween-20	含 Tween-20 的磷酸盐缓冲液
TBST	tris-buffered saline with Tween-20	含 Tween-20 的 Tris 盐酸缓冲液
DEPC	diethyl pyrocarbonate	焦碳酸二乙酯[水]
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
FITC	fluorescein insothiocyanate	异硫氰酸荧光素
PVDF	polyvinylidene difluoride	聚偏二氟乙烯[膜]
RIPA	radio immunoprecipitation assay	放射免疫分析法[裂解液]
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
PI	propidium iodide	碘化丙啶
Bcl-2	B-cell lymphoma-2	B 淋巴细胞瘤-2 基因
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶(内参)
Ras	Rat sarcoma gene	大鼠肉瘤基因
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
cDNA	complementary DNA	互补(反向转录)DNA
siRNA	small interfering RNA	小干扰 RNA

疼痛抑郁共病动物模型及评价方法研究进展

何仁可^{1,2}, 鲁程^{1,2}, 陈薇^{1,2}, 汪萌芽¹, 徐爱萍¹

(1. 皖南医学院细胞电生理研究室, 芜湖 241002; 2. 皖南医学院启明星小组, 芜湖 241002)

[摘要] 慢性疼痛伴发抑郁症状是常见的健康问题, 严重危害了患者的身心健康, 但这些症状的发生机制仍不清楚。为全面了解疼痛抑郁共病的发生机制及其治疗方法, 疼痛抑郁共病动物模型的建立至关重要。本文就目前国内疼痛抑郁共病相关的动物模型建立及行为学评价方法进行综述。

[关键词] 疼痛共病; 抑郁症; 动物模型; 评价方法

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0068-06

Advances in Animal Models and Evaluation Methods of Pain and Depression Comorbidity

HE Renke^{1,2}, LU Cheng^{1,2}, CHEN Wei^{1,2}, WANG Mengya¹, XU Aiping¹

(1. Cell Electrophysiology Laboratory, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China; 2. Rising-Star Group, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

Correspondence to: XU Aiping, E-mail: ap.xu@wnmc.edu.cn

[ABSTRACT] Comorbidity of pain and depression is a common health problem that seriously affects the physical and psychological health of patients. However, the pathogenesis of these symptoms remains unclear. To comprehensively understand the mechanisms and treatments of pain and depression comorbidity, this review summarizes the establishment of related animal models and behavioral evaluation methods of pain and depression comorbidity at home and abroad.

[Key words] Comorbid pain; Depression; Animal model; Evaluation

疼痛是一种与实际或潜在的组织损伤相关的不愉快的感觉和情绪情感体验^[1], 是机体的一种适应性和保护性感受。但疼痛同时也可对身体机能、心理健康和社会功能产生不利影响^[2]。临床研究发现, 40%~60%的慢性疼痛患者伴有明显的抑郁症状^[3-4], 而抑郁情绪的积累会增加患者的疼痛感受, 造成一种恶性循环, 这就是疼痛抑郁共病^[5]。该疾病不仅对患者的身心健康造成了严重的伤害和打击^[6], 还极大地加重了其在家庭和社会的各种负担^[7]。因此, 探讨疼痛与抑郁共病的发病机制及治疗方法具有重要价值和社会意义。基于目前国内外疼痛抑郁共病的研究现状, 亟需建立合适的疼痛抑郁共病动物模型来全面了解疼痛抑郁共病的发生机制及其治疗方法。本文对疼痛抑郁共病的动物模型及其行为学评价方法进行综述。

1 疼痛抑郁共病动物模型的建立

1.1 完全弗氏佐剂致痛模型

完全弗氏佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA) 由石蜡油和灭活的卡介苗配制而成。目前, 通常在动物的足底、肌肉和关节处注射 CFA 以模拟急性或慢性炎症致痛相关的疾病, 这种动物模型广泛用于探究药物抑制炎症或减轻疼痛的疗效观察实验中。

将 CFA 注射到动物的足底, 可造成组织的局部炎症反应^[8]。通常在注射 1 d 后, 动物注射部位开始出现肿胀、痛觉敏化等症状, 这些症状可持续 7 周之久^[9]。Zhou 等^[10] 研究发现, 采用此法造模 4 周后, 动物开始出现抑郁样行为, 具体表现为糖水偏爱指数下降, 强迫游泳实验和悬尾实验中“不动时间”延

[基金项目] 安徽省自然科学基金(1908085QC132); 皖南医学院重点科研项目培育基金(WK2018Z06); 安徽省大学生创新创业训练计划(S201910368009)

[作者简介] 何仁可(1999—), 男, 本科, 研究方向: 细胞电生理。E-mail: 18101010180@stu.wnmc.edu.cn

[通信作者] 徐爱萍(1989—), 女, 助教, 博士, 主要从事抑郁症发病机制研究。E-mail: ap.xu@wnmc.edu.cn

长等。

除了将CFA注射到足底,还可将CFA注射到动物踝关节腔中^[11]。该造模部位首先出现急性炎症表现,如红肿、痛阈下降、运动功能减退等;3周后表现为慢性炎症反应特征,运动功能障碍进一步加重,动物热痛缩足潜伏期缩短,痛觉敏化程度加深;同时,动物糖水偏爱指数下降,表现出抑郁样行为。研究发现,这种模型动物的患处可出现明显的机械性痛觉过敏和热痛觉过敏行为反应,可能与踝关节腔注射CFA引起的外周炎症反应有关,即肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- β)、白细胞介素6 (interleukin-6, IL-6)等促炎因子水平明显升高,且促炎因子透过血脑屏障进入大脑,在中枢引起炎症级联反应,最终表现出疼痛和抑郁样行为^[12-13]。

CFA致痛模型具有病灶局限、痛觉敏化维持时间较长、模型重复性好等优点,是目前慢性关节炎最常用的模型之一。

1.2 脊神经结扎模型

麻醉动物后,在左侧腰椎4~5节段沿脊柱切开皮肤,钝性分离肌肉,暴露出第6腰椎横突,采用4-0医用缝线在近端结扎第5脊神经,然后剪断远端,最后缝合肌肉和皮肤^[14]。术后当日即可出现机械性痛觉过敏和热痛觉过敏,并且持续至少3个月;15 d后出现抑郁样行为,30 d时抑郁样行为更加明显,与假手术组比较,模型组动物糖水偏爱指数下降,强迫游泳实验中动物“不动时间”延长。

有文献报告,脊神经结扎模型会激活p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路和海马中的小胶质细胞,同时伴有TNF- α 、IL- 1β 、IL-10等细胞因子的异常变化^[15]。这可能是脊神经结扎术后神经性疼痛、抑郁样行为出现的分子机制。

脊神经结扎模型的优点是结扎部位和结扎强度变异小,尽可能排除了实验操作误差;缺点是造模方法造成的组织创伤面相对较大,易发生感染,影响造模效果。

1.3 保留性神经损伤模型

该模型的造模手术较为简便^[16]。麻醉动物后,切开后肢外侧面皮肤,钝性分离肌肉,暴露坐骨神经、腓总神经和胫神经,用非吸收性4-0医用缝线结扎腓总神经和胫神经,然后将神经横切,并从该点切除约2 mm的神经,随后缝合皮肤并用碘伏消毒。假手术分

离肌肉,暴露神经后再缝合,保留神经完好无损。在操作过程中尽量避免牵拉和损伤腓肠神经,以免影响模型效果。术后当日模型动物即出现机械性痛觉敏化,持续2个月以上;4周后出现抑郁样行为,维持时间可达8周以上,具体表现为糖水偏爱指数下降、强迫游泳“不动时间”延长。

研究表明,保留性神经损伤模型可引起下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴功能亢进,血清皮质酮含量增加;进一步研究发现,持续增加的皮质酮可导致炎症因子、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)水平改变^[17]。

保留性神经损伤模型的特点是疼痛和抑郁样行为持续时间长,并且行为学表现稳定。

1.4 坐骨神经慢性结扎损伤模型

麻醉动物后,暴露坐骨神经,在坐骨神经分叉前段,使用4-0医用缝线沿神经间隔1 mm的距离进行4个松散结扎^[18]。影响该模型效果的是结扎时的力度,当结扎时小鼠神经周围的肌肉或腿出现了抖动,说明此时结扎的力度符合模型建立要求^[19];若结扎的力度过强或过弱,都有可能导致模型建立失败。疼痛反应在造模1周后出现,表现为舔足、运动障碍、机械性痛阈下降等,2周疼痛反应达到高峰,痛觉过敏可持续8周以上。造模2周后可检测出抑郁样行为,表现为强迫游泳实验中“不动时间”延长。

研究发现,在大鼠坐骨神经慢性结扎损伤模型中,大鼠脊髓背角谷氨酸受体6(glutamate receptor 6, GluR6)表达水平明显升高,而预先鞘内注射GluR6 siRNA不仅能显著抑制大鼠脊髓GluR6的表达,还能减轻模型动物的神经病理性疼痛^[20]。

坐骨神经慢性结扎损伤模型的缺点是结扎的力度难以维持一致,造成神经损伤程度不易控制。

1.5 坐骨神经部分结扎模型

坐骨神经部分结扎模型制作与坐骨神经慢性结扎损伤模型相似。麻醉动物后,暴露坐骨神经前段,结扎坐骨神经前段1/3~1/2。结扎标准是结扎的力度使神经的直径几乎没有收缩。假手术分离肌肉,暴露坐骨神经再缝合,不结扎神经。术后第2天模型动物出现机械性痛觉过敏,可持续1个月;2周后出现抑郁样行为,表现为强迫游泳实验中“不动时间”延长和飞溅实验中“梳理时间”减少^[21]。

研究发现,坐骨神经部分结扎小鼠模型中小胶质细胞被激活,导致神经炎症反应,活化的小胶质细胞

释放多种促炎细胞因子和趋化因子,诱导小鼠大脑皮层和海马活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)含量、一氧化氮(NO)含量和脂质过氧化水平升高,最终使神经元敏感性提高,出现疼痛和抑郁样行为^[22]。

坐骨神经部分结扎模型的缺点是手术难度大,动物神经结扎的力度难以控制一致,影响模型的效果。

2 疼痛抑郁共病动物模型的评价

2.1 痛觉评价

2.1.1 机械性缩足阈值测定

该方法通过直接刺激动物后肢皮肤,观察机械性痛阈的变化。具体操作:动物提前适应测试环境3 d后,置于一个高架网状地板上的透明塑料盒内,测试前需适应30 min;动物安静后,按刺激强度由小到大的顺序,将Von Frey 纤维丝垂直施加于患侧后肢,使细丝弯曲成S形;相同的刺激强度重复测量5次,当5次试验中动物有3次出现足回缩反射时,该刺激强度即动物的机械性痛阈^[23]。当引起动物缩足反射的阈值明显下降,提示动物出现机械性痛觉敏化。

2.1.2 热辐射法热痛缩足潜伏期测定

该方法主要检测动物特定皮肤区域对温度刺激的反应。具体操作:动物提前适应测试环境3 d,环境温度保持在 $(24\pm 1)^{\circ}\text{C}$,测试时将动物放置在测试平台的透明塑料盒内,适应1 h后开始实验;将热辐射光源发射中心对准动物后足底,自照射开始起计时,记录第一次抬起后肢的时间,即缩足反射潜伏期^[24]。每只动物重复测试5次,间隔时间不少于5 min。20 s为最大测量值,以防止热辐射时间过长造成受伤。当引起动物缩足反射的时间减少,提示动物出现热痛觉敏化^[25]。

2.1.3 热板实验热痛反应潜伏期测定

该方法主要检测动物局部皮肤区域对温度刺激的反应。具体操作:动物被放置在一个热板上,温度调整为 $(52\pm 1)^{\circ}\text{C}$,测试时环境温度保持在 $(24\pm 1)^{\circ}\text{C}$ ^[26]。自开始加热计时,记录第一次伤害性反应(舔爪子、缩足)出现的时间,即局部热痛反应潜伏期。每只动物重复测试3次,间隔时间不少于15 min。最大测量值为45 s,以防止热辐射过量造成受伤。当引起动物缩足反射的时间减少,代表动物出现热痛觉敏化^[27]。

2.1.4 光辐射热甩尾反应潜伏期测定

该方法同样是检测动物对温度刺激的反应。具体操作:测试时环境温度保持在 $(24\pm 1)^{\circ}\text{C}$,用光辐射

热测痛仪对实验动物进行不同光照强度下甩尾反应潜伏期的测定,即在距离鼠尾根部1 cm处这一固定点进行不同光照强度下的热辐射,然后测定动物甩尾潜伏期,分析不同光照强度和甩尾潜伏期之间的关系^[28]。每只动物重复测试5次,间隔时间不少于5 min。20 s为最大测量值,以防止热辐射造成受伤。当动物甩尾反应潜伏期缩短,代表动物出现热痛觉敏化^[29]。

2.2 抑郁样行为检测

2.2.1 糖水偏爱实验

抑郁的核心症状之一是快感缺失,具体指对愉快的刺激缺乏反应,或对愉快的体验能力下降。糖水偏爱实验是检测啮齿类动物抑郁样行为最经典的实验之一^[30]。当动物快感缺失、出现抑郁样行为时,其糖水偏爱指数会显著降低^[31]。实验分为适应期和检测期,整个实验期间动物单笼饲养,并且配备2个水瓶。适应期第1天给予动物2个装有1%蔗糖水的水瓶,适应期第2天用1瓶纯水代替1瓶蔗糖水。适应期结束后,禁食禁水一昼夜左右,然后给予动物1瓶1%蔗糖水和1瓶纯水,并且同时给予充足的饲料。1 h后交换水瓶位置,2 h后检测结束,称量糖水和纯水的消耗量^[32]。糖水偏爱指数(%) = 糖水消耗量/(糖水消耗量+纯水消耗量)×100%。此实验可在造模前后检测或治疗前后检测,每两次检测应间隔1周以上。

2.2.2 强迫游泳实验

这是一种行为绝望测试,根据动物的绝望程度评估其抑郁状态^[33]。具体操作:取圆柱形玻璃容器,注入足够淹没动物的水,将动物置于其中,用摄像头记录其6 min内的活动情况。分析指标为首次出现不动状态的潜伏期、后4 min内处于不动状态的时长等。当动物静止漂浮在水面,或仅有尾巴和前爪轻微摆动以保持身体平衡,视为其处于不动状态。考虑到该实验对动物的刺激较大,尽量在造模结束后进行单次实验以检测造模是否成功。

2.2.3 悬尾实验

这也是一种行为绝望测试^[34]。该实验在黑暗、安静的环境中进行,将动物尾部1 cm处固定,悬挂于25 cm×25 cm×30 cm箱子中,使动物头部距离底面约5 cm,用摄像头记录小鼠6 min内的活动情况。分析指标为后4 min内小鼠的不动时间^[35]。与强迫游泳实验类似,通常在造模结束后进行单次实验。

2.2.4 飞溅实验

动物的梳理行为被认为是自我护理和动机评价的指标之一,在一定程度上能反映抑郁症的核心症状。

飞溅实验的具体操作：将10%蔗糖溶液喷在每只动物的背部，并记录动物开始出现梳理活动的潜伏期以及5 min内的梳理活动（包括鼻/脸梳理、头部清洗和身体梳理）^[36]。抑郁症模型动物会表现出潜伏期增加，梳理活动时间减少。

2.2.5 新物体识别实验

该方法能够检测动物对新奇物体的探索偏好^[37]。实验分为适应、熟悉、测试3个阶段。适应阶段：不放置任何物体，让动物熟悉测试环境（在旷场测试箱内实验）5 min。熟悉阶段：24 h后在测试箱一侧放置2个相同物体，大鼠在箱的另一侧背对物体，放入后开始录像共10 min。测试阶段：在熟悉阶段结束24 h后，将其中一个物体换为新物体，测试时间为5 min。记录指标为新物体的探索时间和旧物体的探索时间^[38]，相对辨别指数（%）=（探索新物体的时间－探索旧物体的时间）/（探索新物体的时间＋探索旧物体的时间）×100%。抑郁症模型动物较正常动物探索新物体的时间短，相对辨别指数下降。

2.2.6 新奇抑制摄食实验

抑郁症动物表现为对食物摄入兴趣降低、食欲下降，该实验可通过观察动物摄食行为以反映动物的情绪状态^[39]。以小鼠为例，剥夺食物24 h后，将小鼠放置在从未探索过的开放式竞技场（40 cm×40 cm×30 cm）的角落，中心有3颗实验食物，测量小鼠开始进食的潜伏期；然后，将小鼠放回原饲养笼内，在其中放入3颗食物，再次测量小鼠在饲养笼内的摄食潜伏时间以及在5 min内摄取的食物量^[40]。

2.2.7 社会交互实验

该实验主要检测动物的社交回避行为^[41]。分为两个阶段：第一阶段，动物被放置在一个开放竞技场（44 cm×44 cm×44 cm）中自由活动，竞技场的一侧放置一个空的金属笼（9.5 cm×9.5 cm×8.0 cm），笼子周域5 cm范围内视为交互区；第二阶段，将一只具有攻击性的CD1小鼠放入金属笼中，将实验动物放回开放竞技场，记录动物在交互区停留的时间。社交互动指数（%）=交互区停留时间/（总时间－交互区停留时间）×100%。抑郁症模型动物表现出社交互动指数下降。

3 结语与展望

疼痛抑郁共病的发病率呈逐年上升趋势，影响甚广。目前临床上对于该类共病的治疗手段主要包括传统的抗抑郁药物和镇痛药物，但其治疗效果不尽如人

意，因而受到越来越多研究者的关注。临床影像学资料显示，疼痛抑郁共病患者的多个脑区结构发生了异常变化，如伏隔核和前扣带回等发生了不同程度的萎缩^[42]，并且部分脑区之间出现功能连接的异常^[43]。基础研究发现，许多参与疼痛发生的脑区在调控抑郁症中同样起着重要作用，例如海马、前额叶和杏仁核等^[44]，提示疼痛和抑郁症可能存在共同的神经生物学机制，但更具体的机制尚不明确，亟待研究。

目前，为尽可能模拟临床上疼痛抑郁共病患者的病理生理改变，国内外主流应用的疼痛抑郁共病动物模型有炎性疼痛致抑郁模型和神经病理性疼痛致抑郁模型。从文献分析来看，疼痛抑郁共病模型发生的病理生理学机制各不相同，炎性疼痛抑郁共病模型主要模拟临床上慢性炎症患者，而神经病理性疼痛抑郁共病模型主要模拟临床上神经损伤患者。绝大部分神经病理性疼痛模型是在脊神经、坐骨神经及其相关神经上进行操作，例如坐骨神经慢性结扎损伤模型将坐骨神经结扎压迫，保留性神经损伤模型将坐骨神经切断。这些模型的特点是能够迅速地导致机械性痛阈和热痛阈的下降，并且很好地诱发抑郁样行为。深入研究显示，疼痛抑郁共病的分子病理机制主要包括外周损伤致外周炎性因子透过血脑屏障进入大脑，引起HPA轴功能亢进或中枢神经的炎性反应等^[45]。这与临床资料相一致，但仍需要更细致的研究探讨。

同时，文献中评价疾病动物模型的行为学参数也与临床上疼痛抑郁共病患者的疾病表现相契合，包括痛觉的检测和抑郁样行为的检测。本文总结归纳的痛觉检测方法及其指标有机械性缩足阈值、热辐射法热痛缩足潜伏期、热板实验热痛反应潜伏期和光辐射热甩尾反应潜伏期等。抑郁样行为检测方法有糖水偏爱实验、强迫游泳实验、悬尾实验、飞溅实验、新物体识别实验、新奇抑制摄食实验和社会交互实验等。以上均是经典的行为学实验，深受国际认可，广泛运用于各个实验室。

疼痛抑郁共病动物模型可以为疼痛抑郁共病的发病机制和治疗提供有价值的信息，建立合适的动物模型是了解疼痛抑郁共病病理生理学机制并进行新药开发不可缺少的一部分。理想的疼痛抑郁共病动物模型应具有以下优点：易操作、造模成功率高、与临床一致性高等。但多数模型只能模拟疼痛抑郁共病中某一或某些方面的症状，并且各种症状都存在时效性，超过一定时间模型就可能失效或者自愈，只能出现暂时性而非永久性的疾病状态，无法完全模拟疼痛抑郁共

病患者的真实状态,难以达到实验的目的。同时,在建立动物模型时,实验人员的操作手法以及熟练度也是模型成功与否的关键,例如在神经病理性模型中,结扎的部位和结扎的力度影响着成模的效果。因此,要根据各种动物模型的特点、适用范围以及实验研究目的来设计、选择合适的动物模型。此外,应继续改良或开发与临床表征更为贴切的疼痛抑郁共病模型,为揭示疼痛抑郁共病的发病机制、研发治疗药物提供更有价值的依据。

[作者贡献]

何仁可:负责资料的收集与整理、论文的撰写与修订;

鲁程、陈薇:资料的收集与整理;

汪萌芽、徐爱萍:文章质量控制与审核。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] CHERIF F, ZOUARI H G, CHERIF W, et al. Depression prevalence in neuropathic pain and its impact on the quality of life[J]. *Pain Res Manag*, 2020, 2020: 7408508. DOI:10.1155/2020/7408508.
- [2] LI S, HUA D Y, WANG Q Y, et al. The role of bacteria and its derived metabolites in chronic pain and depression: recent findings and research progress[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2020, 23(1):26-41. DOI:10.1093/ijnp/pyz061.
- [3] BAIR M J, ROBINSON R L, KATON W, et al. Depression and pain comorbidity: a literature review[J]. *Arch Intern Med*, 2003, 163(20):2433-2445. DOI:10.1001/archinte.163.20.2433.
- [4] EMMERICH A C, FRIEHS T, CROMBEZ G, et al. Self-compassion predicting pain, depression and anger in people suffering from chronic pain: a prospective study[J]. *Eur J Pain*, 2020, 24(10):1902-1914. DOI:10.1002/ejp.1638.
- [5] UCKUN A C, DONMEZ B K, YURDAKUL F G, et al. The role of pain catastrophizing and depression in the outcomes of physical therapy in a prospective osteoarthritis cohort[J]. *Pain Physician*, 2020, 23(2):209-218.
- [6] ANGST F, BENZ T, LEHMANN S, et al. Extended overview of the longitudinal pain-depression association: a comparison of six cohorts treated for specific chronic pain conditions[J]. *J Affect Disord*, 2020, 273: 508-516. DOI: 10.1016/j.jad. 2020. 05.044.
- [7] SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ E, ARAGONÈS E, JENSEN M P, et al. The role of pain-related cognitions in the relationship between pain severity, depression, and pain interference in a sample of primary care patients with both chronic pain and depression[J]. *Pain Med*, 2020, 21(10):2200-2211. DOI:10.1093/pm/pnz363.
- [8] JIN Y, MENG Q, MEI L, et al. A somatosensory cortex input to the caudal dorsolateral striatum controls comorbid anxiety in persistent pain[J]. *Pain*, 2020, 161(2): 416-428. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001724.
- [9] ZHU X, TANG H D, DONG W Y, et al. Distinct thalamocortical circuits underlie allodynia induced by tissue injury and by depression-like states[J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(4): 542-553. DOI:10.1038/s41593-021-00811-x.
- [10] ZHOU W, JIN Y, MENG Q, et al. A neural circuit for comorbid depressive symptoms in chronic pain[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(10):1649-1658. DOI:10.1038/s41593-019-0468-2.
- [11] GRÉGOIRE S, WATTIEZ A S, ETIENNE M, et al. Monoarthritis-induced emotional and cognitive impairments in rats are sensitive to low systemic doses or intra-amygdala injections of morphine[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 735:1-9. DOI:10.1016/j.ejphar.2014.03.056.
- [12] SILVA RODRIGUES J F, SILVA E SILVA C, FRANCA MUNIZ T, et al. Sulforaphane modulates joint inflammation in a murine model of complete Freund's adjuvant-induced mono-arthritis [J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 988. DOI: 10.3390/molecules 23050988.
- [13] JI R R, XU Z Z, GAO Y J. Emerging targets in neuro-inflammation-driven chronic pain[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(7):533-548. DOI:10.1038/nrd4334.
- [14] SUZUKI T, AMATA M, SAKAUE G, et al. Experimental neuropathy in mice is associated with delayed behavioral changes related to anxiety and depression[J]. *Anesth Analg*, 2007, 104(6): 1570-7, tableofcontents. DOI: 10.1213/01. ane. 0000261514.19946.66.
- [15] HU X, DONG Y, JIN X, et al. The novel and potent anti-depressive action of triptolide and its influences on hippocampal neuroinflammation in a rat model of depression comorbidity of chronic pain[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 64: 180-194. DOI:10.1016/j.bbi.2017.03.005.
- [16] ZHU X, ZHOU W, JIN Y, et al. A central amygdala input to the parafascicular nucleus controls comorbid pain in depression [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(12): 3847-3858. e5. DOI:10.1016/j.celrep. 2019.11.003.
- [17] SANNA M D, LES F, LOPEZ V, et al. Lavender (*Lavandula angustifolia* mill.) essential oil alleviates neuropathic pain in mice with spared nerve injury[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 472. DOI:10.3389/fphar.2019.00472.
- [18] ZHAO X, WANG C, ZHANG J F, et al. Chronic curcumin treatment normalizes depression-like behaviors in mice with mononeuropathy: involvement of supraspinal serotonergic system and GABAA receptor[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231(10):2171-2187. DOI:10.1007/s00213-013-3368-2.
- [19] ZHANG Y W, GAO T, LI X, et al. Circ_0005075 targeting miR-151a-3p promotes neuropathic pain in CCI rats via inducing NOTCH2 expression[J]. *Gene*, 2021, 767:145079. DOI:10.1016/j.gene.2020.145079.
- [20] ZHANG W G, WANG F, ZHANG L C, et al. Intrathecal injection of ozone alleviates CCI-induced neuropathic pain via the GluR6-NF- κ B/p65 signalling pathway in rats[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4):231. DOI:10.3892/mmr.2021.11870.
- [21] MEUWISSEN K P V, DE VRIES L E, GU J W, et al. Burst and tonic spinal cord stimulation both activate spinal GABAergic mechanisms to attenuate pain in a rat model of chronic neuropathic pain[J]. *Pain Pract*, 2020, 20(1):75-87. DOI:10.1111/papr.12831.
- [22] BIRMANN P T, SOUSA F S S, DOMINGUES M, et al. 3-(4-

- Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1H-indole promotes recovery of neuropathic pain and depressive-like behavior induced by partial constriction of the sciatic nerve in mice[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2019, 54: 126-133. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.04.014.
- [23] GARCIA MENDES M P, CARVALHO DOS SANTOS D, REZENDE M J S, et al. Effects of intravenous administration of recombinant Ph α 1 β toxin in a mouse model of fibromyalgia [J]. *Toxicon*, 2021, 195: 104-110. DOI: 10.1016/j.toxicon.2021.03.012.
- [24] CHEAH M, FAWCETT J, ANDREWS M. Assessment of thermal pain sensation in rats and mice using the Hargreaves test[J]. *Bio Protocol*, 2017, 7(16): e2506. DOI:10.21769/bioprotoc.2506.
- [25] MA Z, LI Y, ZHANG Y P, et al. Thermal nociception using a modified Hargreaves method in primates and humans[J]. *Funct Neurol*, 2015, 30(4): 229-236. DOI: 10.11138/fneur/2015.30.4.229.
- [26] AZIZ Z A A, NASIR H M, AHMAD A, et al. Enrichment of *Eucalyptus oil* nanoemulsion by micellar nanotechnology: transdermal analgesic activity using hot plate test in rats' assay[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13678. DOI: 10.1038/s41598-019-50134-y.
- [27] SINGH P, KONGARA K, HARDING D, et al. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin[J]. *BMC Neurol*, 2018, 18(1):43. DOI:10.1186/s12883-018-1047-y.
- [28] 余雪霏, 张铭勋, 方博文, 等. 大鼠光辐射热尾试验的时反应量-效关系[J]. *皖南医学院学报*, 2014, 33(2):176-180. DOI:10.3969/j.issn.1002-0217.2014.02.029.
- [29] BANNON A W, MALMBERG A B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents[J]. *Curr Protoc Neurosci*, 2007, Chapter 8: Unit 8.9. DOI:10.1002/0471142301.ns0809s41.
- [30] GURURAJAN A, REIF A, CRYAN J F, et al. The future of rodent models in depression research[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(11):686-701. DOI:10.1038/s41583-019-0221-6.
- [31] XIA G B, HAN Y, MENG F T, et al. Reciprocal control of obesity and anxiety-depressive disorder via a GABA and serotonin neural circuit[J]. *Mol Psychiatry*, 2021: 1-17. DOI: 10.1038/s41380-021-01053-w.
- [32] CAO P, CHEN C M, LIU A, et al. Early-life inflammation promotes depressive symptoms in adolescence via microglial engulfment of dendritic spines[J]. *Neuron*, 2021, 109(16):2573-2589.e9. DOI:10.1016/j.neuron.2021.06.012.
- [33] PORSOLT R D, ANTON G, BLAVET N, et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments[J]. *Eur J Pharmacol*, 1978, 47(4): 379-391. DOI: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.
- [34] STERU L, CHERMAT R, THIERRY B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1985, 85(3):367-370. DOI:10.1007/bf00428203.
- [35] CUI Y, YANG Y, NI Z, et al. Astroglial Kir4.1 in the lateral habenula drives neuronal bursts in depression[J]. *Nature*, 2018, 554(7692):323-327. DOI:10.1038/nature25752.
- [36] KARBOWSKA M, HERMANOWICZ J M, TANKIEWICZ-KWEDLO A, et al. Neurobehavioral effects of uremic toxin-indoxyl sulfate in the rat model[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):9483. DOI:10.1038/s41598-020-66421-y.
- [37] LUEPTOW L M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice[J]. *J Vis Exp*, 2017(126): 55718. DOI:10.3791/55718.
- [38] DENNINGER J K, SMITH B M, KIRBY E D. Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a budget[J]. *J Vis Exp*, 2018(141): 10.3791/58593. DOI:10.3791/58593.
- [39] DULAWA S C, HEN R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005, 29(4-5):771-783. DOI:10.1016/j.neubiorev.2005.03.017.
- [40] QU S Y, LI X Y, HENG X, et al. Analysis of antidepressant activity of Huang-Lian Jie-du decoction through network pharmacology and metabolomics[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:619288. DOI:10.3389/fphar.2021.619288.
- [41] GOLDEN S A, COVINGTON H E, BERTON O, et al. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice[J]. *Nat Protoc*, 2011, 6(8): 1183-1191. DOI: 10.1038/nprot.2011.361.
- [42] GILAM G, GROSS J J, WAGER T D, et al. What is the relationship between pain and emotion? Bridging constructs and communities[J]. *Neuron*, 2020, 107(1):17-21. DOI:10.1016/j.neuron.2020.05.024.
- [43] MALFLIET A, COPPIETERS I, VAN WILGEN P, et al. Brain changes associated with cognitive and emotional factors in chronic pain: a systematic review[J]. *Eur J Pain*, 2017, 21(5): 769-786. DOI:10.1002/ejp.1003.
- [44] KUMMER K K, MITRIĆ M, KALPACHIDOU T, et al. The medial prefrontal cortex as a central hub for mental comorbidities associated with chronic pain[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): E3440. DOI:10.3390/ijms21103440.
- [45] BEUREL E, TOUPS M, NEMEROFF C B. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble [J]. *Neuron*, 2020, 107(2): 234-256. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.06.002.

(收稿日期:2021-05-16 修回日期:2021-08-03)

(本文编辑:富群华,张俊彦)

支气管哮喘动物模型研究的文献分析与评价

任雪交¹, 黄巍¹, 邱菲菲², 陈晓晓¹, 肖湘³, 罗文婷³, 唐宋琪³

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 成都岐黄博恩生物科技有限公司, 成都 611139; 3. 海南医学院, 海口 571199)

[摘要] 支气管哮喘是由多种炎性细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病。为研究该病的发病机制、治疗及预后, 需建立可靠的动物模型。本文对哮喘动物模型建立方式进行汇集、评价, 从多角度、多方面对支气管哮喘动物模型研究进行全方位对比, 以期帮助研究者快速找到符合自己预期的造模方法。

[关键词] 支气管哮喘; 动物模型; 评价指标

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0074-07

Progress in Animal Models for Bronchial Asthma

REN Xuejiao¹, HUANG Wei¹, QIU Feifei², CHEN Xiaoxiao¹, XIAO Xiang³, LUO Wenting³, TANG Songqi³

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Chengdu Qihuang Boen Biotechnology Co., Ltd., Chengdu 611139, China; 3. Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

Correspondence to: TANG Songqi, E-mail: tangsongqi@hainmc.edu.cn

[ABSTRACT] Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease of the airways involving a variety of inflammatory cells and cellular components. To study the pathogenesis, treatment, and prognosis of this disease, a reliable animal model must be established. This article summarizes and evaluates the modeling methods for asthmatic animals and presents comprehensive comparison of the study of bronchial asthma animal models from different perspectives, hoping to provide a reference for researchers in the future.

[Key words] Bronchial asthma; Animal model; Evaluation indicator

支气管哮喘 (bronchial asthma) 简称哮喘, 是由多种炎性细胞 (如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞等) 和细胞组分参与的以气道慢性炎症为特征的异质性疾病, 该病在各个年龄段均可发病。根据廖小刚等^[1]对中国成人哮喘患病率的Meta分析结果可以看出, 支气管哮喘高发于老年人群体^[2]。支气管哮喘以临床症状和体征、可变性气流受限的客观指标为主要诊断标准^[3]。

建立可靠的支气管哮喘动物模型是进一步探索不同形式支气管哮喘的发病机制与开发治疗药物的重要支撑。本文通过文献检索, 汇集各种支气管哮喘动物模型, 并对这些文献进行评价, 以供研究者选择合适的动物模型。本文不仅从动物模型的类型与选择上进行综述, 而且从多角度、多方面对支气管哮喘动物模型建立方法上进行全方位对比, 并辅以图表展示, 以期能让研究者快速找到符合自己预期的造模方法。

1 文献纳入及筛选

以“动物模型”、“支气管哮喘”为中文主题词检索中国知网 (CNKI)、万方医学网、维普期刊全文数据库, 并以“animal model”、“bronchial asthma”为英文主题词检索PubMed、SCI数据库; 各主题词之间均采用“and”运算法则, 时间范围1999年1月至2021年2月。共检索到文献4 323篇, 其中中文文献2 383篇, 英文文献1 940篇。

文献纳入标准: (1) 支气管哮喘动物模型建立的研究; (2) 采用支气管哮喘动物模型进行的实验研究。排除标准: (1) 内容不相关或关系不密切的研究; (2) 文章数据不完整或缺失; (3) 资料无法提取的文章。

对收集的文献进行整理分类, 剔除重复文献, 阅读摘要并精读全文。根据文献纳入及排除标准, 最终筛选到质量较高的相关文献74篇^[6-79], 其中中文文献

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81860840)

[作者简介] 任雪交(1996—), 女, 硕士研究生, 专业方向为中药药理。E-mail: carrie@stu.cdutcm.edu.cn

[通信作者] 唐宋琪(1981—), 男, 教授, 主要从事于中医药防治变态反应性疾病的临床与实验研究。E-mail: tangsongqi@hainmc.edu.cn

53篇, 英文文献21篇。本文即重点分析这74篇文献, 综述支气管哮喘动物模型的建立方法。

2 支气管哮喘动物模型

支气管哮喘动物模型一般可分为慢性支气管哮喘模型与急性支气管哮喘模型。因支气管哮喘发病机制较复杂, 但多会导致中性粒细胞、嗜酸性粒细胞等炎症相关细胞水平升高, 所以也可将上述炎性细胞作为主要检测指标, 建立中性粒细胞哮喘模型、嗜酸性粒细胞哮喘模型等各种模型。表1列出了不同支气管哮喘模型的建立方法及其使用动物。图1是纳入文献中所有支气管哮喘模型的造模方法汇总。

2.1 小鼠

小鼠具有遗传背景明确、品系多、生物学抗体多等特点, 且小鼠支气管哮喘的发病机制中以IgE为主要抗体, 与人体相似。但小鼠的气道平滑肌细胞不健全, 对组胺应答较弱^[4]。雌性小鼠气道炎症细胞浸润的程度比雄性小鼠严重, 且其支气管肺泡灌洗液中炎性细胞数也较雄性多^[5], 因此常选择雌性小鼠建模。在本次纳入研究的74篇文献中, 共有36篇文献采用小鼠造模, 且常选用BALB/c小鼠。BALB/c小鼠应用率达到72.2%, 显著高于C57BL/6小鼠(25%)与昆明系小鼠(2.8%)。

2.2 大鼠

大鼠同样具有遗传背景明确、生物学抗体多的优点, 且同样以IgE为介导超敏反应的主要抗体。但大鼠多次接触过敏原, 可能会存在脱敏现象, 对组胺应答也较弱^[4]。本次纳入的文献中, 大鼠的应用略低于小鼠, 共有25篇文献选用大鼠造模。其中SD大鼠的应用率为60%, 显著高于Wistar大鼠(32%)、棕色挪威鼠(BN大鼠)(8%)。

2.3 豚鼠

豚鼠是最早使用的支气管哮喘模型动物, 其气道解剖结构和对炎性介质的反应与人相似, 广泛应用于迟发型、速发型哮喘。但豚鼠的生物学抗体少, 且豚鼠哮喘以IgG为主要抗体, 与人体过敏性哮喘的机制不符^[4]。因此, 豚鼠作为哮喘模型动物的应用率低于小鼠与大鼠, 在本次文献研究中, 仅有7篇文献选择豚鼠造模。

2.4 其他

不常用的动物有兔、马、羊、猫、犬和非人灵长类等动物, 这些动物模型与人类哮喘发病模式更接近, 但研究者们较少选用大型动物造模。

3 动物模型的选择与综合评价

理想的动物模型应该要结合研究者的目的, 达到研究者预期的效果, 所研究疾病在动物模型上的病理表现须与人类的临床病理相匹配, 同时考虑造模周期、成功率、经济效应等因素。本文从动物模型与人体疾病的相似程度、造模难度、风险评估、经济性等几个方面对支气管哮喘动物模型的建立方法进行综合性评价, 以供研究者们以更为直观的方式选择合适的动物模型。

3.1 动物模型与人体疾病的相似程度

3.1.1 病因

支气管哮喘是一种反复发作的变应性疾病。诱发支气管哮喘的病因有多种, 接触变应原、长期服用 β_2 受体阻断剂或非甾体消炎药物、上呼吸道感染、长期处于不良环境下均可能诱发哮喘。其中常见的变应原可分为三类: (1) 吸入性变应原, 如屋尘、尘螨、花粉、蟑螂、动物皮毛等; (2) 易过敏性食物, 如牛奶、鸡蛋、鱼虾、香料等; (3) 病原体及毒素, 如曲霉菌、枝孢菌、链格孢菌等^[80]。对于动物模型的开发, 采用与易感哮喘人群相同的致敏原, 是构建理想的支气管哮喘动物模型的前提。

对纳入的文献进行回顾性评价可以看出, 变应原提取物致敏依旧是动物模型开发的主体。构建支气管哮喘动物模型常用的抗原: 卵清蛋白、屋尘螨提取物、粉尘螨提取物、葎草花粉粗浸液、豚草、美洲大蠊粗浸液、德国小蠊粗浸液、呼吸道合胞病毒、孢子悬液、烟曲霉提取物、内毒素等。见图1。

其中, 以卵清蛋白应用最为广泛。卵清蛋白是蛋清中主要的蛋白质之一, 它会诱发强烈的过敏性支气管炎, 可用于构建慢性、急性及其他特异性哮喘模型, 常与佐剂(通常是氢氧化铝)联合使用。佐剂吸附卵清蛋白抗原后, 可增加抗原表面积, 使抗原易于被巨噬细胞吞噬。Shilovskiy等^[63]认为, 卵清蛋白与佐剂的联合使用不利于再现慢性哮喘模型中的一个主要特征即气道重塑, 并且他们采用无佐剂的卵清蛋白成功构建了慢性哮喘模型。但也有文献报告, 卵清蛋白与佐剂联合也可以成功构建具有气道重塑特征的慢性哮喘动物模型^[18]。而佐剂与支气管哮喘的发生和临床发展均无关, 且对实验动物具有刺激性, 因此采用无佐剂卵清蛋白作为过敏原依旧是更好的选择。

其次以屋尘螨、粉尘螨、花粉等吸入性变应原应用较多, 它们与过敏性哮喘的临床发生、发展相关性更大。特别是屋尘螨, 它是世界范围内室内过敏原的

表1 不同支气管哮喘模型的建立方法及使用动物

Table 1 Modeling methods for different types of bronchial asthma animal models

支气管哮喘模型	造模方法	动物
急性支气管哮喘模型	卵清蛋白致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[6-18] ; 昆明系小鼠 ^[19] ; SD大鼠 ^[20-26] ; BN大鼠 ^[27] ; Wistar大鼠 ^[28-32] ; 豚鼠 ^[33-35] ; Hartley系白化豚鼠 ^[36] ; Dunkin-Hartley豚鼠 ^[37]
	卵清蛋白、内毒素致敏, 卵清蛋白激发	BALB/c小鼠 ^[38]
	卵清蛋白致敏, 卵清蛋白、内毒素激发	BALB/c小鼠 ^[39]
	烟熏、卵清蛋白致敏, 卵清蛋白激发	豚鼠 ^[40]
	美洲大蠊粗浸液致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[41]
	德国小蠊粗浸液致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[42]
	卵清蛋白致敏, 呼吸道合胞病毒、卵清蛋白激发	BALB/c小鼠 ^[43]
	呼吸道合胞病毒致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[44]
	孢子悬液致敏及激发	C57BL/6小鼠 ^[45]
	葎草花粉粗浸液致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[46]
	屋尘螨致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[47] ; C57BL/6小鼠 ^[48] ; BN大鼠 ^[49]
	粉尘螨致敏及激发	C57BL/6小鼠 ^[50-51]
	烟曲霉提取物溶液致敏及激发	C57BL/6小鼠 ^[52]
	蟑螂过敏原提取物致敏及激发	C57BL/6小鼠 ^[53-54]
	卵清蛋白、百日咳杆菌致敏, 卵清蛋白激发	SD大鼠 ^[55-59] ; Wistar大鼠 ^[60]
慢性支气管哮喘模型	卵清蛋白致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[61-63] ; Wistar大鼠 ^[64-65] ; SD大鼠 ^[66-67]
	屋尘螨致敏及激发	BALB/c小鼠 ^[68] ; 雌性美利奴羊羔 ^[69] ; 新西兰白兔 ^[70]
	豚草致敏及激发	比格犬 ^[71]
	百慕大草致敏及激发	猫 ^[72]
	屋尘螨加粉尘螨提取物致敏及激发	食蟹猴 ^[73]
中性粒细胞性哮喘模型	卵清蛋白致敏与激发	C57BL/6小鼠 ^[74-75]
过敏性鼻炎-哮喘模型	卵清蛋白致敏与激发	豚鼠 ^[76]
哮喘气道重塑动物模型	呼吸道合胞病毒、卵清蛋白致敏, 卵清蛋白激发	SD大鼠 ^[77]
高湿哮喘动物模型	利用环境变化并辅以OVA致敏	BALB/c小鼠 ^[78]
自发性哮喘模型	潜在的过敏诱因是干草和稻草中的有机和无机物质	马 ^[79]

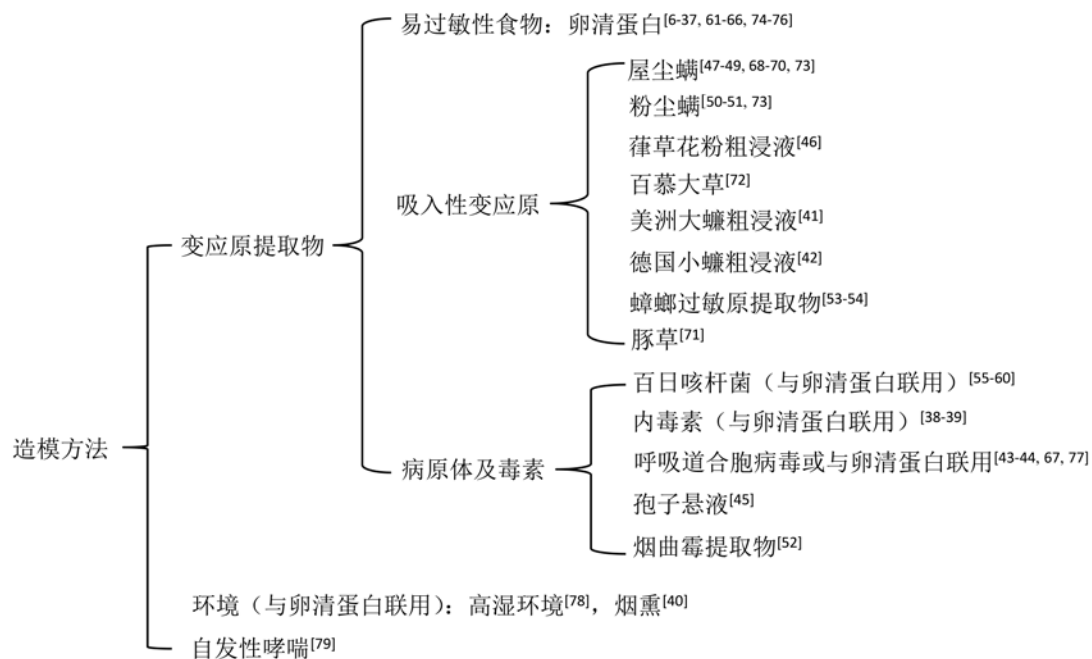


图1 纳入文献的造模方法汇总

Figure 1 Summary of modeling methods included in the literature

主要来源。采用屋尘螨提取物诱导的哮喘小鼠动物模型,其发展与人类哮喘的自然发生与发展过程非常接近。李鸿佳^[68]以每日25 μg/只屋尘螨溶液鼻内滴注BALB/c小鼠,每周连续5 d,连续5周,成功构建了慢性支气管哮喘动物模型。Debeuf等^[47]采用声带沉积屋尘螨溶液的方式致敏BALB/c小鼠,并以鼻内滴注的方式激发,建立了急性支气管哮喘动物模型。

近年来,以吸入性变应原、病原体及毒素、环境变化致敏模型动物的方式建立哮喘动物模型的研究逐渐多了起来,增加了哮喘动物模型的全面性。周欣芸等^[78]将BALB/c小鼠置于相对湿度为(90±5)%的高湿环境与正常环境下,以无卵蛋白饲料交替饲养12 h,并通过卵清蛋白致敏和激发,即成功建立了高湿哮喘模型,该模型对研究高湿环境诱发或加剧哮喘的机制具有重要价值。总之,对于动物模型致敏方式,研究者应基于所研究内容做出合适的选择。

3.1.2 病理或指标

支气管哮喘的临床表现为:反复发作的喘息、气急、胸闷或咳嗽等症状;常在夜间及凌晨发作或加重,同时伴有可变的基础气流受限和气道高反应性;随着病程的延长可导致气道结构的改变,即气道重塑^[3]。

对于支气管哮喘动物模型的评价指标应有如下几个方面。(1)一般状态观察:记录实验动物的一般状态,确定实验动物是否产生支气管哮喘症状。(2)肺组织病理学检测:观察肺组织是否存在气道大量炎性细胞浸润、肺泡间隔增厚、支气管痉挛等病理表现。(3)肺功能检测:包括气道高反应、气道重塑。(4)炎性细胞水平或相关因子测定。

对上述文献进行回顾性评价时发现,共有43篇文献^[6-9,11-14,16-20,27-29,33-35,37-38,40-43,45-50,52-54,58,61,63,69-73,75]缺少实验动物的一般状态观察记录;12篇文献^[7,9,11,20,23,29,35,37,40,67,71,79]缺少肺组织病理学检测,其中自发性哮喘模型^[79]虽无肺组织病理学检测,但其体征、哮喘症状与病理反应均更接近临床;40篇文献^[6,10,13,15,21-26,28-32,34-35,42,44,46-57,60-62,64-65,67,69,76,78]缺少肺功能检测(监测模型动物气道高反应症状);8篇文献缺少炎性细胞水平或相关因子测定^[18,20-21,28,32,36,49,66];仅有5篇文献对以上指标均进行了记录及检测^[39,59,68,74,77]。表2列出了这5篇文献中所采用的造模方法、评价指标等具体信息。

3.2 支气管哮喘动物模型的造模难度

本文以病种为类别对上述标明病种的文献的造模时间进行分类评价,而未标明病种的文献统一评价。

急性支气管哮喘动物模型:DAUBEUF等^[9]用8 d时间即成功构建了急性哮喘模型,以该方法造模可极大减少造模时间,降低造模难度,并提高经济效益。

慢性支气管哮喘动物模型:慢性哮喘造模时间普遍偏长,最短为一个月左右^[18,74-75],时间长的可达2~3个月^[61-62,64-66]。考虑到慢性支气管哮喘的治愈周期长,病情容易反复,因此采用更长的造模时间可能更符合支气管哮喘的临床疾病发展。

支气管哮喘动物模型(未标明病种):小鼠、大鼠、豚鼠等小型模型动物的常规哮喘动物模型的建立时间为半个月到一个月。而兔、羊、猫、犬、猴等大型模型动物的造模时间明显长于小型模型动物,VAN等^[73]以食蟹猴构建支气管哮喘模型需6~8个月的造模时间;NORRIS^[72]等以猫为模型动物构建支气管哮喘模型需1年以上的造模时间。因此选用大型动物造模的难度明显高于小型动物。

此外,纳入的文献中,只有2篇文献^[66-67]报告了存在过敏致死的现象。

3.3 经济性

小鼠是实验动物中品种和品系最多的动物,也是最常用的支气管哮喘模型动物。而大鼠价格低廉、对外在环境适应性强、抗病性高,同样也常被应用于哮喘动物模型的造模。豚鼠是最早使用的支气管哮喘模型动物,造模选用的豚鼠对品系一般无特殊要求。这3种小型动物都具有经济适用性高的特点,是被广泛使用的模型动物。

兔、羊、猫、犬、马、猴等大型动物,具有与人类哮喘发病模式更接近的特点,但经济适用性比小鼠、大鼠、豚鼠低。其中自发性哮喘的马以静息呼吸频率、腹部呼吸、肺听诊及呼吸道中性粒细胞水平、动脉血气水平、哮喘临床特征等为模型评价指标^[79]。因为不用对哮喘马匹进行处死即可对模型进行评价,这明显提高了该模型的经济适用性,但自发性哮喘马的价格还是较普通哮喘模型动物高。

另外,与尘螨、蟑螂、花粉等吸入性变应原提取物相比,卵清蛋白具有更高的经济性,这也是其能被广泛使用的重要原因。

综上所述,回顾所有纳入评价的文献,只有5篇文献^[39,59,68,74,77]对所造动物模型进行了全面的指标评价(表2)。其中有3篇文献^[39,59,74]采用了Al(OH)₃或弗氏完全佐剂吸附卵清蛋白抗原;而从病因的角度来看,佐剂与支气管哮喘的发生和发展均无关,因此其模型与人体疾病的相似程度低于无佐剂模型^[68,77]。

表2 记录及检测了全部4个评价指标的文献所采用的造模方法

Table 2 Modeling methods used in the literature that involve the recording and testing of four evaluation indicators

模型	造模方法	具体操作	动物及采样	评价指标	与人体疾病的相似程度	操作难度	经济性
急性支气管哮喘模型 ^[39]	卵清蛋白致敏, 卵清蛋白+内毒素激发	致敏液: 以 Al(OH) ₃ 为佐剂的卵清蛋白混悬液, 背部皮下、腹腔注射致敏; 激发液: 卵清蛋白雾化吸入, 内毒素鼻腔滴入激发	BALB/c 小鼠: BALF、肺组织	行为学观察、BALF 细胞分类计数、肺组织病理学检测、气道反应性测定	+	+	++
急性支气管哮喘模型 ^[59]	卵清蛋白+百日咳杆菌致敏, 卵清蛋白激发	致敏液: 含卵清蛋白、氢氧化铝凝胶及灭活百日咳杆菌疫苗的混合液, 五点式注射致敏(双后足趾、双侧腹股沟皮下及腹腔); 激发液: 1% 卵清蛋白溶液, 雾化吸入激发	SD 大鼠: 肺组织、肺动脉、BALF	大鼠一般形态学观察、肺组织病理学检测、肺功能检测、BALF 中 EOS 细胞计数、血清对氧自由基的清除能力观察	+	++	+
慢性支气管哮喘模型 ^[68]	屋尘螨致敏和激发	每日给予鼻内滴入屋尘螨提取液 25 μg/只, 每周连续 5 d, 续 5 周。	BALB/c 小鼠: BALF、肺组织	哮喘小鼠症状及体征变化、气道反应性测定、BALF 中细胞分类及计数、BALF 中炎性介质的表达水平测定、肺组织病理学检测	++	-	-
中性粒细胞性哮喘模型 ^[74]	卵清蛋白+CFA致敏, 卵清蛋白激发	第 1 天致敏, 第 22、23 天激发。 致敏液: 0.1 mL 由 75 μL CFA(弗氏完全佐剂)+25 μL PBS+20 μg 卵清蛋白(V 级)组成的乳化液; 激发液: 将小鼠暴露在含 0.1% 的卵清蛋白(Ⅲ级)的 PBS 气溶胶中激发至出现类似哮喘症状	C57BL/6 小鼠: 眼球取血、BALF、肺组织	小鼠一般状态学观察、肺功能测定、肺组织病理学检测、BALF 中 IL-17 的表达水平检测、BALF 总细胞及分类计数、外周血细胞分类计数、外周血中性粒细胞凋亡及迁移率检测	+	-	-
哮喘气道重塑动物模型 ^[77]	呼吸道合胞病毒+卵清蛋白致敏, 卵清蛋白激发	致敏液: 呼吸道合胞病毒、卵清蛋白溶液, 鼻内滴注呼吸道合胞病毒, 并于背部、双下肢外侧皮下注射卵清蛋白致敏; 激发液: 1% 卵清蛋白, 雾化吸入激发	SD 大鼠: 肺叶、BALF	大鼠一般状态观察、气道反应性测定、肺泡灌洗液细胞计数和分类、肺组织病理学检测	++	-	-

注: BALF 指支气管肺泡灌洗液; EOS 指嗜酸性粒细胞。“++”程度比“+”高。“操作难度”与“经济性”只进行了同类模型间的比较。

[作者贡献]

任雪交: 讨论并确定文章框架, 查找及筛选文献, 初稿撰写及修改;
陈晓晓、肖湘、罗文婷: 讨论并确定文章框架, 查找与筛选文献, 参与文稿修订;
黄巍、邱菲菲、唐宋琪: 共同讨论并确定文章框架, 审核初稿并给出修改意见。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] 廖小刚, 朱爱勇, 王欣国, 等. 中国成人哮喘患病率的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2020, 20(10):1164-1172.
[2] 彭平. 支气管哮喘的发病机制及药物治疗该病的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2018, 16(10):34-35.
[3] 无, 周新, 沈华浩, 等. 支气管哮喘防治指南(2020 年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43(12):1023-1048.

[4] 乔永康, 杨光涛, 毛彩霞, 等. 职业相关哮喘及其哮喘动物模型[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(4): 7-11. DOI:10.3969/j.issn.1673-548X.2008.04.004.
[5] HAYASHI T, ADACHI Y, HASEGAWA K, et al. Less sensitivity for late airway inflammation in males than females in BALB/c mice[J]. Scand J Immunol, 2003, 57(6):562-567. DOI:10.1046/j.1365-3083.2003.01269.x.
[6] 邓学泉, 姚银, 郭洁波, 等. Balb/c 与 DO_{11.10} 小鼠哮喘模型的建立[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(49):7914-7919. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.49.008.
[7] DAUBEUF F, FROSSARD N. Acute asthma models to ovalbumin in the mouse[J]. Curr Protoc Mouse Biol, 2013, 3(1): 31-37. DOI:10.1002/9780470942390.mo120202.
[8] 魏红玲, 邢燕, 周薇, 等. 卵清蛋白诱导宫内发育迟缓小鼠发生支气管哮喘动物模型的建立[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(12): 1223-1228. DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2019.12.014.
[9] DAUBEUF F, FROSSARD N. Eosinophils and the ovalbumin

- mouse model of asthma[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1178:283-293. DOI:10.1007/978-1-4939-1016-8_24.
- [10] 丁召磊, 谭薇, 刘静静. 哮喘动物模型气道中白细胞介素6的动态变化及其意义[J]. *潍坊医学院学报*, 2014, 36(2):123-125. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3101.2014.02.015.
- [11] 李鹏飞. 炎症因子对哮喘合并焦虑小鼠大脑中神经肽S变化的影响[D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [12] 吴小凯. 化合物CT133对过敏性哮喘的药效学研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [13] 张妍迪. 芪味理肺汤对大鼠支气管哮喘模型NF- κ B、I κ B α 及细胞因子分泌的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [14] LOU L L, TIAN M Y, CHANG J X, et al. MiRNA-192-5p attenuates airway remodeling and autophagy in asthma by targeting MMP-16 and ATG7[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122:109692. DOI:10.1016/j.biopha.2019.109692.
- [15] JIAO J Y, WU J M, WANG J L, et al. Ma Huang Tang ameliorates bronchial asthma symptoms through the TLR9 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 580-593. DOI: 10.1080/13880209.2018.1517184.
- [16] DENG L J, MA P, WU Y, et al. High and low temperatures aggravate airway inflammation of asthma: evidence in a mouse model[J]. *Environ Pollut*, 2020, 256:113433. DOI:10.1016/j.envpol.2019.113433.
- [17] KIM B G, PARK M K, LEE P H, et al. Effects of nanoparticles on neuroinflammation in a mouse model of asthma[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2020, 271: 103292. DOI: 10.1016/j.resp.2019.103292.
- [18] 苗青, 王燕, 任亦欣, 等. AG490拮抗STAT3信号通路对慢性哮喘小鼠气道重塑的影响[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2020, 14(3):190-196. DOI:10.3969/j.issn.1673-8705.2020.03.003.
- [19] 张峰, 穆在荷, 王烨, 等. 归脾汤对支气管哮喘的抑制作用研究[J]. *河北中医学报*, 2016, 31(2): 42-44, 48. DOI: 10.16370/j.cnki.13-1214/r.2016.02.016.
- [20] 崔龙苹, 杨永清, 陈汉平, 等. 过敏性哮喘大鼠模型的制备[J]. *上海实验动物科学*, 2000, 20(2):69-71.
- [21] 韩超, 杨柳, 张秋玲, 等. 黄芩苷对哮喘大鼠 p38 MAPK 信号通路影响初探[J]. *广州医药*, 2016, 47(4):5-9. DOI:10.3969/j.issn.1000-8535.2016.04.002.
- [22] 韩超, 杨柳, 张秋玲, 等. 黄芩苷对哮喘大鼠气道重塑作用的实验研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(7):749-754.
- [23] 邹爱玲, 柳新, 于文潇. 润肺膏对哮喘大鼠支气管肺泡灌洗液中TNF- α 、IFN- γ 含量的影响[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(16):2975-2976. DOI:10.16281/j.cnki.jocml.2017.16.004.
- [24] 孙哲. 芍药甘草汤干预哮喘急性发作的代谢组学研究[D]. 西安: 西北大学, 2015.
- [25] 萨百汗. 穿心莲内酯类化合物抗大鼠过敏性哮喘作用研究[D]. 开封: 河南大学, 2014.
- [26] 陈春辉. 咳嗽宁对哮喘大鼠肺组织趋化素因子1表达的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [27] SALMON M, WALSH D A, HUANG T J, et al. Involvement of cysteinyl leukotrienes in airway smooth muscle cell DNA synthesis after repeated allergen exposure in sensitized Brown Norway rats[J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 127(5):1151-1158. DOI:10.1038/sj.bjp.0702669.
- [28] 马璇雯. 穴位注射联合中药贴敷对支气管哮喘大鼠的作用机制研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [29] LAXMI V, GUPTA R, BHATTACHARYA S K, et al. Inhibitory effects of sildenafil and tadalafil on inflammation, oxidative stress and nitrosative stress in animal model of bronchial asthma[J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 71(3): 517-521. DOI: 10.1016/j.pharep.2019.02.008.
- [30] 徐升, 董艳, 杨昆, 等. 三子养亲汤对支气管哮喘模型大鼠保护作用及对CysLTs炎症通路的影响[J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(1):40-43.
- [31] 刘莹, 朱洪达, 郑小伟. 肾气虚哮喘大鼠模型建立的探索[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(10):2365-2367. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2015.10.018.
- [32] 王一轩. 平喘I号对急发期哮喘大鼠肺组织ERK的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- [33] 李海银, 朱黎明, 戴爱国, 等. 豚鼠中性粒细胞性哮喘模型的建立[J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2012, 6(4):245-249. DOI:10.3969/j.issn.1674-3911.2012.04.004.
- [34] 梁成结, 陈江华, 刘金保, 等. 建立豚鼠哮喘模型的一种新方法[J]. *热带医学杂志*, 2005, 5(3): 291-292, 296. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2005.03.011.
- [35] 仕丽, 李晓红, 王檀, 等. 定喘止哮颗粒对支气管哮喘动物模型血清IFN- γ 、IL-4、IL-5的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(12): 3394-3395. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2014.12.084.
- [36] 李宁. 白芥子涂法穴位贴敷对哮喘豚鼠气道高敏感性的作用及机制研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2017.
- [37] NEAMATI A, BOSKABADY M H, AFSHARI J T, et al. The effect of natural adjuvants on tracheal responsiveness and cell count in lung lavage of sensitized Guinea pigs[J]. *Respirology*, 2009, 14(6):877-884. DOI:10.1111/j.1440-1843.2009.01566.x.
- [38] 赵燕, 冉雪梅, 黄毅, 等. 构建以Th17应答为主致气道中性粒细胞增高的小鼠哮喘模型[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(13):1376-1378. DOI:10.16016/j.1000-5404.2013.13.007.
- [39] 顾鹏程, 许惠琴, 范欣生, 等. 内毒素诱导致敏小鼠建立支气管哮喘动物模型的实验研究[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2010, 33(1):56-59. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2010.01.020.
- [40] 高明, 张忠德, 李际强, 等. 豚鼠咳嗽变异性哮喘模型的建立[J]. *广东医学*, 2016, 37(9): 1290-1292. DOI: 10.13820/j.cnki.gdxy.20160503.007.
- [41] 许卓谦, 刘志刚, 于琨瑛, 等. 蟑螂变应原诱导小鼠肺部变应性炎症动物模型的研究[J]. *免疫学杂志*, 2006, 22(5):491-495. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8861.2006.05.006.
- [42] 许卓谦, 刘志刚, 喻海琼, 等. 重组Bla g2变应原诱导小鼠变应性反应气道炎症动物模型的建立[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2006, 26(5):446-451. DOI:10.3760/j.issn: 0254-5101.2006.05.017.
- [43] 童黄锦, 范欣生, 许惠琴, 等. 一种病毒性哮喘模型制作方法的建立及评价[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2008, 29(3):349-352.
- [44] 刘丽娜, 杨季国, 程东庆. 呼吸道合胞病毒诱发的哮喘小鼠模型的建立[J]. *浙江中医药大学学报*, 2007, 31(2):154-155, 157. DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2007.02.006.
- [45] 徐周, 蒋蓉芳, 宋伟民. 互隔交链孢霉诱导小鼠气道变应性炎症动物模型的构建[J]. *卫生研究*, 2009, 38(2):129-132. DOI: 10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2009.02.001.
- [46] 李雅莉, 张明, 卢家美, 等. 律草花粉致敏的小鼠肺部变应性炎症模型的建立[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2010, 31(5):562-565.
- [47] DEBEUF N, HASPELAGH E, VAN HELDEN M, et al. Mouse models of asthma[J]. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2016, 6(2):169-184. DOI:10.1002/cpmo.4.
- [48] CLARKE A H, THOMAS W R, ROLLAND J M, et al. Murine allergic respiratory responses to the major house dust mite

- allergen Der p 1[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, 120(2):126-134. DOI:10.1159/000024230.
- [49] MOLDOBAEVA A, JENKINS J, ZHONG Q, et al. Lymphangiogenesis in rat asthma model[J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(1):73-84. DOI:10.1007/s10456-016-9529-2.
- [50] 陈华夏, 高金明, 蒋磊, 等. 粉尘螨蛋白致敏小鼠肺部变应性炎症模型的建立[J]. *基础医学与临床*, 2009, 29(9):901-904. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2009.09.004.
- [51] 冉苇, 邓宜红, 庄义军, 等. 以粉尘螨提取液为致敏原产生高水平IgE的改良小鼠哮喘模型的建立和评估[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(2):235-239. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2014.02.021.
- [52] 刘婷婷, 戴璐, 王绿娅, 等. 烟曲霉提取物诱导小鼠哮喘模型的建立[J]. *心血管病杂志*, 2015, 34(2):137-140. DOI:10.3969/j.issn.1007-5062.2015.02.016.
- [53] XU T, ZHOU Y F, QIU L P, et al. Aryl hydrocarbon receptor protects lungs from cockroach allergen-induced inflammation by modulating mesenchymal stem cells[J]. *J Immunol*, 2015, 195(12): 5539-5550. DOI: 10.4049/jimmunol.1501198.
- [54] SUN L C, FU J R, LIN S H, et al. Particulate matter of 2.5 μm or less in diameter disturbs the balance of T H₁₇/regulatory T cells by targeting glutamate oxaloacetate transaminase 1 and hypoxia-inducible factor 1 α in an asthma model[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(1): 402-414. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.10.008.
- [55] 冯艳青, 彭勤, 赵培利. 建立支气管哮喘大鼠模型的新方法及评价[J]. *河北医药*, 2011, 33(24): 3694-3695. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2011.24.004.
- [56] 蒋朱秀, 郑小伟, 江劲, 等. 加味金匱肾气丸对哮喘大鼠气道炎症的缓解作用及其机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(8): 932-935. DOI:10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.08.007.
- [57] 刘丹, 李云, 钟礼立, 等. 甲磺司特对哮喘大鼠气道炎症及IL-5的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(7):759-763. DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2014.07.021.
- [58] 王雅娟, 赵一婷, 戴斌, 等. 两种大鼠哮喘模型的比较[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(8): 1175-1178. DOI: 10.3969/j.issn. 1001-1978.2014.08.028.
- [59] 李春雷. 芪味理肺汤治疗支气管哮喘抗氧化机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [60] 刘贵颖, 张慧琪, 朱振刚, 等. 卵清蛋白致敏大鼠支气管哮喘模型的制备[J]. *临床肺科杂志*, 2013, 18(7):1167-1169.
- [61] 韩新鹏. EPO基因修饰的骨髓间充质干细胞在哮喘气道重塑中的作用及机制[D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [62] 郑琦, 郎玉英, 何飞. 红景天对支气管哮喘小鼠Th17/Treg细胞及其细胞因子的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(6):1560-1563, 10033.
- [63] SHILOVSKIY I P, SUNDUKOVA M S, BABAKHIN A A, et al. Experimental protocol for development of adjuvant-free murine chronic model of allergic asthma[J]. *J Immunol Methods*, 2019, 468:10-19. DOI:10.1016/j.jim.2019.03.002.
- [64] 张霞. 平喘颗粒对慢性哮喘大鼠肺组织中Notch2及Gsk-3 β mRNA表达的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- [65] 师留杰. 平喘颗粒通过调控miRNA-21表达对慢性哮喘大鼠BALF中EOS水平的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- [66] 赵俊鹏. 芪黄补肺汤干预哮喘大鼠气道重塑及对细胞色素C的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [67] 谭维. 咳喘宁对RSV诱发哮喘大鼠血清IL-4、IFN- γ 和IgE的调节作用[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2016.
- [68] 李鸿佳. 槲皮素通过TLR4/NF- κ B信号调节哮喘气道炎症机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [69] BISCHOF R J, SNIBSON K, SHAW R, et al. Induction of allergic inflammation in the lungs of sensitized sheep after local challenge with house dust mite[J]. *Clin Exp Allergy*, 2003, 33(3):367-375. DOI:10.1046/j.1365-2222.2003.01534.x.
- [70] KEIR S, PAGE C. The rabbit as a model to study asthma and other lung diseases[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2008, 21(5):721-730. DOI:10.1016/j.pupt.2008.01.005.
- [71] OUT T A, WANG S Z, RUDOLPH K, et al. Local T-cell activation after segmental allergen challenge in the lungs of allergic dogs[J]. *Immunology*, 2002, 105(4): 499-508. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2002.01383.x.
- [72] NORRIS REINERO C R, DECILE K C, BERGHAUS R D, et al. An experimental model of allergic asthma in cats sensitized to house dust mite or Bermuda grass allergen[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2004, 135(2):117-131. DOI:10.1159/000080654.
- [73] VAN SCOTT M R, HOOKER J L, EHRMANN D, et al. Dust mite-induced asthma in cynomolgus monkeys[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2004, 96(4): 1433-1444. DOI: 10.1152/jappphysiol.01128.2003.
- [74] 李三. 定喘汤治疗中性粒细胞性哮喘小鼠的疗效及作用机制研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2017.
- [75] 张敏, 农光民, 蒋敏, 等. 苯亚甲基丙二腈脂类衍生物AG490减轻中性粒细胞性哮喘模型小鼠气道炎症[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(6):730-733, 738. DOI:10.13423/j.cnki.cjcmi.007777.
- [76] 尹硕森. 基于TLR9/AP-1信号通路探讨益气祛风、宣痹化饮方治疗过敏性鼻炎—哮喘综合征的作用机制[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [77] 李海霞, 张勇华, 任晓丹, 等. 建立RSV联合OVA诱发幼年大鼠哮喘模型的方法[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(12):1371-1373. DOI:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.12.004.
- [78] 周欣芸, 周龙甫, 陈欣, 等. 高湿哮喘动物模型的建立[J]. *实验动物科学*, 2018, 35(3): 59-63. DOI: 10.3969/j.issn. 1006-6179. 2018.03.011.
- [79] Klier J, Geis S, Steuer J, et al. A comparison of nanoparticulate CpG immunotherapy with and without allergens in spontaneously equine asthma-affected horses, an animal model[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2018, 6(1):81-96. DOI: 10.1002/iid3.198.
- [80] SHEEHAN W J, PHIPATANAKUL W. Indoor allergen exposure and asthma outcomes[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2016, 28(6): 772-777. DOI:10.1097/MOP.0000000000000421.

(收稿日期:2021-03-02 修回日期:2021-08-09)

(本文编辑:周烁,张俊彦)

高校实验动物设施维护保养采用社会化服务模式的实践与思考

吴 强¹, 任 倩², 华 晨¹, 周正宇²

(1. 苏州苏净安发环境科技有限公司, 苏州 215127; 2. 苏州大学实验动物中心, 苏州 215123)

[摘要] 本文通过分析高校实验动物设施运营维护的现状及存在问题, 并结合苏州大学实验动物中心多年来的工作实践, 提出高校采用社会化服务模式进行实验动物设施维护保养可有效控制系统风险, 同时提高设施的使用效率。这也符合国家对高校后勤社会化改革的要求。

[关键词] 实验动物设施; 维护保养; 社会化服务

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 1674-5817(2022)01-0081-05

Practice and Reflection on Socialized Service of Laboratory Animal Facility Maintenance in Colleges and Universities

WU Qiang¹, REN Qian², HUA Chen¹, ZHOU Zhengyu²

(1. Suzhou Sujing Aimfar Air Conditioning Co., Ltd, Suzhou 215127, China; 2. Laboratory Animal Center of Soochow University, Suzhou 215123, China)

Correspondence to: ZHOU Zhengyu, E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

[ABSTRACT] On the basis of current situation and existing problems analysis of laboratory animal facility maintenance in colleges and universities, as well as many years of practice, the author believes that socialized services of laboratory animal facility maintenance in colleges and universities can effectively control the system risk, improve the efficiency of facilities, and meet the national requirements for the socialization reform in college logistics.

[Key words] Laboratory animal facilities; Maintenance; Socialized services

实验动物设施是用于实验动物生产繁殖或利用实验动物进行科学研究、教学、生物制品和药品研发的建筑物及配套设备的总和^[1], 按其使用目的不同, 分为实验动物生产和繁育设施和动物实验设施。设施的安全运行和环境条件标准化控制是保证实验动物质量和动物实验顺利进行的必备条件, 而科学化和专业化的维护保养(简称维保)是保证设施常年稳定运行, 保障环境条件达标, 提高设备运行效率, 降低设备故障率, 延长系统使用寿命的关键。如何做好实验动物设施的维保工作是每一个高校动物中心都面临的挑战。

自1999年国务院办公厅首次提出高校后勤社会化改革以来, 后勤社会化服务的步伐不断迈进, 市场机制在后勤资源配置中的作用逐步增强, 社会资源对高校的后勤保障能力、运行效率和服务质量得到了显著

提高, 为高校的发展奠定了坚实基础^[2]。随着高校后勤社会化的全面深化改革, 实验动物设施维保的社会化服务模式也应运而生。高校通过购买校外专业公司的维保服务, 由专业公司负责动物设施的日常安全巡检, 定期维护更新相关软硬件系统, 在设备发生软硬件故障时, 及时提供备件并进行有效的维修, 确保实验动物设施设备的安全、稳定、可靠运行。根据笔者多年的实践, 就实验动物设施维保社会化服务的现状和趋势进行总结, 以期为同行提供参考, 提升我国实验动物设施运行维护的水平, 为医学和生命科学研究提供更可靠的保障和支撑。

1 高校实验动物设施维保现状

近年来, 随着生物医药和实验动物行业发展, 我

[作者简介] 吴 强(1972—), 本科, 高级工程师, 主要从事生物医药行业的空气净化工程设计及施工。E-mail: wq@aimfar.com.cn

[通信作者] 周正宇(1973—), 男, 副教授, 主要从事糖尿病分子机制、动物模型与比较医学研究。E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

国实验动物设施建设和发展十分迅速，各高校纷纷投入大量资金进行新建和改建，实验动物设施的规模迅速扩大。而中大型实验动物设施若发生事故，通常会造成无法挽回的损失。因此，实验动物设施的运行维护与保养问题日渐凸显。

一般而言，高校实验动物设施种类繁多，除常规的普通设施、屏障环境设施外，尚有感染性设施、放射性设施、隔离设施等，部分高校甚至有多个设施，且种类不同，并分散在不同校区。设施的建设时间、面积、运行情况各异，部分设施因运行年限较长，其设备老旧、工况差、运行效率低，突出表现在空调制冷（热）效率降低、管道或房间漏风等导致设施内温湿度波动大、房间压差不稳等。这些都对设施的维保提出了更高的要求。

实验动物设施维保通常包括日常过滤器更换、水电自控等的维修、空调设备保养与巡检、设施运行参数调校等，这些工作需要暖通、电气、自控等专业技术人才方可胜任。目前，各高校实验动物设施的维保

主要有自我维保、准专业团队维保和社会化维保服务3种形式（表1）。

大多数高校通常没有专业的实验动物设施维保技术人员，仅仅是动物中心定期派人进行更换空气过滤器等简单的维保工作，只能维持设施的基本运行，对空调主机、风机等关键设备缺乏基本的保养，设施环境稳定性差，运行隐患大。目前多数高校实验动物设施采取这一形式进行维保。

少数高校实验动物中心自己建立了维保专业团队，进行设施的维保，设施运行保障性较大。但是如果管理责任不到位或维保人员思想麻痹，易造成隐患。而且高校一般缺乏齐全的专业技术人员，对各种设备的检修能力不完备，设备运行存在隐患。

极少数高校实验动物设施的运行维护交由具备专业能力和经验的公司进行服务与保障，责权利明晰。动物中心对社会化服务的质量进行监督，设施运行有了切实有效的保障。

表1 不同维保模式的区别
Table 1 Differences between different maintenance modes

维保模式	维保团队	维保内容	故障排查解决效率和速度
自我维保	人员少,缺乏专业技术人员	仅更换过滤器和简单维修	效率低,速度慢
准专业团队维保	只有部分专业人员	日常运行维护,不能对主要设备进行检修	效率较高,速度较快
社会化服务	各种专业技术人员齐全	全覆盖,24 h值班	效率高,速度快

2 高校实验动物设施维保存存在的主要问题

2.1 重维修、轻保养

实验动物设施包括饲育饲养实验设备、消毒灭菌设备、污物处理设备、配电设备、各功能区其他设备装置^[3]，涵盖了通风空气净化系统、监控系统、门禁系统、网络、电话系统、操作控制系统、水处理系统、独立通气笼盒系统（individually ventilated cages, IVC）、气体管路、强电系统、蒸汽管道、辅助装饰（主要包括门窗、锁、墙体）等。使用年限越久的设备，发生故障概率越高。保证设备运行正常的关键在于保养，其次才是维修。高校实验动物设施普遍不注重设施设备的日常保养检修，仅在设备发生故障时才去寻找解决方案，同时受技术力量等条件限制，很难发现设备存在的运行及安全隐患，这对于设施的安全、稳定运行极为不利，容易发生重大事故。

2.2 手续多、审批慢

设施设备发生隐患或故障时，涉及维修、改造、

采购及经费使用等程序，在高校通常需层层审批，需要较长时间才能办理好整个手续。在问题得到解决之前，设施及环境的稳定性受到很大影响，严重时甚至整个设施不能正常运行，会显著影响正常的教学及科研工作。

2.3 缺乏专业力量

实验动物设施运行涉及面广，专业性较强，不同设施对环境要求不一，维保要求也不同，仅仅依赖单位相关人员和技 术很难支撑种类繁多、面积较大的实验动物设施安全、稳定运行。高校实验动物中心工作人员绝大多数为实验动物、医学相关专业背景，缺少具有机电、暖通、自控等专业知识和实践的专业人员，设施运行过程中一旦出现故障，通常需要寻求校外专业技术人员解决，大大延长了故障解决的时间。

2.4 运行稳定性差、隐患大

实验动物设施尤其是屏障设施，对环境的要求高，微生物控制严格，这些均需要通过相关设备24 h不间断运转来实现及维持。高校实验动物设施由于缺少专

业技术力量,难以及时发现设施设备运行的隐患;缺乏日常的保养维护,设施设备发生故障的风险大;同时受体制等因素的限制,高校实验动物设施检修、设备与耗材购置周期长,导致故障排除周期长,设施环境的稳定性较差、隐患大^[4]。

3 实验动物设施维保社会化服务的实践探索

与其他高校设施相似,作者单位苏州大学实验动物中心在运行过程中也经历过上述类似问题。自2017年起,苏州大学实验动物中心将设施维保完全交由专业化的维保公司负责,实行维保“管家式”服务模式。

3.1 维保服务的要求

根据苏州大学实验动物中心设施运行的实际情况,对维保服务提出了如下要求:(1)24 h值班巡查,及时发现问题;(2)及时监测重点设备工况,每2 h巡检主要设备的运行情况;(3)制订各系统设备的日常巡检计划和中长期保养维修计划,严格按计划执行,将设备管理纳入以维护为主的良性轨道;(4)定期检测及保养主要设备,每年春秋季节对空调主机进行全面检测,以消除隐患;(5)统计分析运行数据,即根据各设施运行参数的记录,汇总分析设施设备运行状态,研判运行风险。

3.2 维保服务的具体内容

耗材的更换:主要包括空气过滤器、水处理系统的耗材以及灯管等。综合考虑大气环境质量和压差等因素^[5],制定科学合理的空气过滤器更换方案。苏州大学实验动物中心的设施周边空气质量较好,按照维保方案,初效过滤器一般3个月更换一次,中效过滤器一般6个月更换一次,高效过滤器一般12个月更换一次。定期更换初效和中效过滤器,一方面可以保护高效过滤器,另一方面可以降低空调机组能耗,减少电费。当然维保人员还需定期观察过滤器的压差情况,如室外空气质量变差,导致压差超过设定值(初效过滤器终阻力设定为150 Pa,中效过滤器终阻力设定为250 Pa),如超过设定值,则需要及时更换初效或中效过滤器。IVC机箱、风淋室内的高效过滤器也纳入此范围,更换周期不宜超过12~18个月^[6]。水处理系统的更换包括预处理、预过滤水系统、超滤装置等^[7]。维保人员要根据出水的水质及时更换滤芯。此外,苏州大学实验动物中心的设施比较分散,有些设施的灯管是T8灯管,能耗高,而且故障率也高(T8的整流器容易坏),因此逐步更换为LED平板灯。相比传统的T8灯管,LED平板灯不但故障率低,而且可节电30%以上。

实时监测环境参数:每天定时观察设施内各饲养室的温度、相对湿度以及各区域压力差。每2 h记录各主要设备的运行工况及参数,如检查每日IVC机组显示屏上的运行参数,确认是否符合设施环境标准。运行参数超过标准时,应及时反馈维修人员。

设备保养:定期对空调制冷(热)主机、空调机组、水泵等进行保养。苏州大学实验动物中心的空调制冷主机采用了风冷模块水冷机组。维保人员主要对制冷系统、电压电流、管路压力、水质等进行日常检查,每季度保养一次,一年做一次大保养。空调机组的风机需要日常检查、每季度保养,保养内容主要是风机轴承添加润滑脂,并检查皮带的松紧程度,若发现皮带有损坏,必须及时更换。水泵作为水系统重要的动力设备之一,维保人员主要检查扬程是否达到设计流量要求,水泵的轴承每季度定期检查。通风空调系统是屏障设施的主要硬件组成部分之一,它的功能是将屏障设施的温度、相对湿度、风量、换气次数和空气的洁净度等内环境指标控制在国家标准规定的范围内^[8]。检查重点包括:空调制冷热、加除湿设备和各种阀件是否正常,空调机组内有无积尘或生锈腐蚀,送(排)风机及控制装置的性能,通风系统密封性,配电线路的接点安全可靠。IVC噪声会刺激动物神经-内分泌系统,影响生长繁育。造成机组噪声的主要原因有风机老化(轴轮磨损、变形)、过滤器堵塞或有异物进入风机等^[9]。一般风机更换年限为2~4年。IVC系统的维护包括清洁、润滑、防腐蚀、紧固及更换配件等。

环境参数调校:压差或温湿度异常情况下对设备进行调校。压差异常不仅影响内环境中微生物指标,而且会产生刺耳的啸叫声。在季节交替及温度变化较大的天气下,空调系统容易产生故障,导致温湿度波动范围较大,设施内环境异常。如冬天室外温度突然降低,空调系统的表冷器管路容易损坏,空调不能正常运行,导致室内温湿度异常,这时工作人员需要对设备及时维修和调校。

日常维修:包括照明、门锁、传递窗、风淋室、室外水管等。动物照度灯异常会影响设施内动物照度,门锁破坏带来压差的改变,传递窗紫外灯损坏会影响物品传递消毒效果等。这些都是设施良好运行所要关注的环节。

3.3 维护服务的协调与培训

通过微信群、QQ群等建立高校实验动物设施管理人员、维保人员快速沟通的渠道,及时了解设施运行

状态和故障信息,快速发现问题并予以解决。与此同时,加强彼此专业领域的培训。维保人员要参加设施管理尤其是屏障设施中人员、物品等进出设施的要求等内容的培训。高校设施管理人员要参加关于屏障设施运行原理、常见故障与异常的诊断等内容的培训,能够了解设施运行过程中的异常并做出初步判断,更加准确地发现和描述故障,以便维保人员及时诊断并排除异常。

4 高校实验动物设施维保社会化服务的思考

实验动物设施维保需要人员专业性强、责任心强,近年来众多高校和科研院所也陆续开始进行实验动物设施维保的社会化探索。一方面高校后勤社会化服务持续推进,设施维保的社会化可显著减少高校实验动物设施运行的风险,提高保障能力;另一方面,随着实验动物设施规模的快速增长,一些净化工程企业看到了设施维保的市场,纷纷投入力量开展专项服务,尤其是专业做实验动物设施工程的企业,至少有6家已开展实验动物设施维保服务。受体制、经费等的限制,目前开展实验动物设施维保社会化服务的高校尚为数不多,多以企业委托。以苏州工业园区为例,近10家单位均委托了专业公司开展实验动物设施维保的社会化服务。高校实验动物设施运行维护需要高校相关部门和维保单位共同合作,实行联动机制,相互监督,才能保障设施的稳定运行,确保相关科研工作的客观性和可靠性^[10]。

4.1 设施维保社会化服务的优势

实践证明,设施维保服务的社会化降低了实验动物设施运行的故障率,缩短故障解决的时间,稳定性大大提高;同时可及时发现并解决可能存在的隐患,消除设施运行的系统性风险,充分保障高校教学、科研工作的秩序。以苏州大学实验动物中心为例,通过建立耗材仓库,建立微信工作群,专业化的社会化服务能使一般性故障1~10 min内响应,0.5~1 h内解决;通过日常巡查,多次发现风机、水泵及空调主机运行隐患,并迅速解决,有效保障了设施运行平稳,使得高校实验动物设施管理人员能够摆脱繁琐与非主要性工作,集中精力放在教学、科研和服务上,提高了工作效率(表2)。

通过合同约定,专业维保机构为高校提供专业的设施维保有偿服务。维保公司具有技术和团队优势,掌握最新的技术和行业动态,配置齐全的专用设备、工具和检测仪器,为高校设施提供调试、保养、改造

以及自动化控制等全方位的服务,保证了服务的及时性和专业性。在互惠互利的原则下,高校和服务机构双方达成长期的合作关系,建立一个设施维保的专业化、社会化体系,可促进社会资源的有效利用和优化配置,这也是实验动物设施维保行业发展的必然趋势。

表2 社会化专业服务维保模式的优势

Table 2 Advantages of socialized professional service

维保模式	巡视记录	主要设备 保养能力	设施运行 稳定性	责任心	系统性 风险
自我维保	无	无	较差	小	大
专业团队维保	不完全	基本无	较好	较小	较小
社会化维保服务	有	有	好	大	几乎无

4.2 设施维保社会化服务并未显著增加运行成本

设施维保的费用取决于设施的规模、条件(硬件配置情况、建设与运行年限)以及维保的内容与要求。以苏州大学实验动物中心为例,现有屏障设施5 100 m²(共4处,最早的设施2005年建成),之前半专业化的维保费用为45万元(屏障设施面积4 000 m²,专业技术人员1人);目前全社会化管家式维保费用为72万元(4人24 h值班,屏障设施面积5 100 m²),如果算上增加的服务(除过滤器以外的维修、设备巡检等)和减少的管理成本,实际并未明显增加设施运行维护费用。

4.3 设施维保社会化服务的建议

4.3.1 明晰责权利

高校在与维保公司签订合同时,应明确双方的权利和义务,商定维保工作内容以及需要的人员、耗材及相关费用负担等,以防后期产生不必要的麻烦。以苏州大学实验动物中心为例,2017年采用的是半专业化的维保模式,专业人员1人,无24 h值班,出现故障电话联系维修,仅日常过滤器更换;从2017年起采用全社会化管家式维保,规定专业人员4人,包括暖通专业1人、电气专业1人、自动化1人、给排水1人,24 h值班,每2小时巡查一次。因设施分散,由维保单位加装了空调机组远程报警功能,耗材包含初、中、高效过滤器,活性炭过滤器;日常保养内容包括空调制冷热主机保养、空调机组保养(风机轴承、电机轴承、皮带)、自控系统传感器的定期巡检与维护;并每月提交维保报告,年底提交年度维保报告,维保公司承担合同内的费用,用户单位承担维保合同内容以外的费用。

4.3.2 加强监督与沟通

虽然专业的维护团队具有精细化的维护要求和强

大的技术后备,但是使用单位及时发现问题并与维保单位保持流畅有效的信息联络也是必不可少的。此外还需强调,维保单位应对自控、监控、门禁等系统使用人员进行技术培训、操作培训,设施管理部门也应加强对设施设备运行的监管与查看,并对维保人员进出设施流程进行培训与监督。以苏州大学实验动物中心为例,使用单位对维保单位所有人员进行上岗前的安全培训及进出设施的工作流程培训、对接教师的交流;维保单位与使用单位设施各负责人组建微信群,建立应急电话联系机制(含维保单位值班人员电话、维保负责人电话、维保单位总负责人电话),使用单位或维保单位发现问题会第一时间通过微信及电话联系维保值班人员,维保值班人员立即响应,并及时到达现场处理故障,排除故障后及时反馈给使用单位报修人,并以纸质版方式提交维修记录单。维保单位至少每半年一次召集用户代表召开设施设备运行状态与隐患分析专题会,总结经验,分析隐患,减少设备故障,提高设施安全性和可靠运行。

总之,做好实验动物设施运行的安全工作,不断提高系统的运行效率,可以更好地为教学、科研工作提供有力支撑和保障^[11]。如何有效解决目前高校动物实验设施运行与维护存在的问题,探索将原有的半专业化维护模式向专业化“管家服务”模式转变,值得更多实验动物行业从业者思考、尝试和实践。

[作者贡献]

吴强:讨论并确定文章框架,查找及筛选文献,初稿撰写及修改;

任倩:讨论并确定文章框架,查找及筛选文献,参与文稿修订;

华晨:共同讨论并确定文章框架,参与文稿修订;

周正宇:共同讨论并确定文章框架,审核初稿并给出修改意见。

[利益声明] 所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 吕京. 实验动物设施的验证标准[J]. 中国医院建筑与装备, 2021, 22(8):16-20. DOI:10.3969/j.issn.1671-9174.2021.08.001.
- [2] 张萧萧. "双一流"背景下的高校后勤社会化研究[J]. 佳木斯职业学院学报, 2021, 37(4):123-124.
- [3] 王莹, 王洪军. 高校动物实验管理向社会化服务模式转变的思考[J]. 实验室研究与探索, 2017, 36(3):266-268, 273.
- [4] 李军延, 赵金鹏, 郝书荣, 等. 实验动物设施的职业卫生问题及管理[J]. 中国卫生工程学, 2006, 5(3):164-166. DOI:10.3969/j.issn.1671-4199.2006.03.024.
- [5] 黄海定, 曾星, 邓时贵, 等. 大学附属医院动物实验设施的运行管理[J]. 现代医院, 2010, 10(6):119-121. DOI:10.3969/j.issn. 1671-332X.2010.06.059.
- [6] 李秀荣, 黄治朝, 李妍涵, 等. 无特定病原体级实验动物屏障环境设施独立通风笼系统的运行与维护[J]. 中国医学装备, 2019, 16(8):132-134. DOI:10.3969/J.ISSN.1672-8270.2019.08.036.
- [7] 赵伟健, 王刚, 邝少松. 实验动物设施中使用净化水设备其正常运行维护及注意事项[J]. 实验动物科学, 2008, 25(3):63-64. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2008.03.017.
- [8] 李小军, 黄家政, 艾必燕, 等. 实验动物屏障设施空气净化系统的运行管理[J]. 实验动物科学, 2008, 25(1): 40-41. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2008.01.012.
- [9] 尹松林, 傅江南. 实验动物独立通气笼盒系统设计与应用[M]. 北京: 人民军医出版社, 2008: 112-115.
- [10] 任萍萍, 程津津, 史晓萍. 屏障系统实验动物环境设施建设及运行维护模式[J]. 实验动物科学, 2011, 28(6): 57-58. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2011.06.015.
- [11] 李学勇, 靳洪涛, 刘欣. 实验动物屏障设施管理中的几个关键问题[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(1):69-76. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2008.01.020.

(收稿日期:2021-12-15 修回日期:2022-02-13)

(本文编辑:富群华)

《实验动物与比较医学》稿约

《实验动物与比较医学》创刊于1981年,系国内第一本实验动物科技领域的专业学术性刊物。本刊兼顾普及与提高,刊登实验动物和比较医学领域的研究新成果、新进展和各种信息,内容主要涉及人类疾病动物模型构建、实验动物资源开发与利用、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术与方法、实验动物医学、比较医学方法研究,以及实验动物应用于生物医药各领域的基础与应用研究,栏目包括专家论坛、研究论著、综述、经验交流、实践与探索、技术与平台、政策与法规、前沿述评、科技动态、人物及书讯等。读者对象为生物学、医学、药学、动物学和农学等各领域从事实验动物生产、繁育、检测和管理以及应用实验动物进行比较医学研究的广大科技工作者、教育工作者和医学工作者。欢迎各方作者投稿。

1 稿件写作要求和注意事项

1.1 研究论著的内容必须构思有据、设计严密、材料标准(所用实验动物要注明品种、品系、等级、性别、年龄、体质量、来源、饲养环境,以及生产许可证、使用许可证和质量合格证编号)、方法可靠(动物实验需符合3R原则,并通过科研伦理审查)、数据精确且运用恰当的统计学方法分析处理,应在前人工作基础上有所发展,提供新知。

1.2 研究论著的内容一般按下列顺序分节排列:中文的标题、作者姓名及单位名称、结构式摘要和关键词,英文的文题、作者姓名及单位名称、摘要和关键词,引言,材料与方法,结果,讨论,参考文献。基金项目、第一作者和通信作者简介放在首页脚注位置,致谢、作者贡献、利益声明等信息放在讨论之后。正文中各级标题层次按1、1.1、1.1.1、…的形式排列。

1.3 论文标题力求简明、具体、确切,应能概括出文章要旨。中文题目字数一般以少于20个汉字为宜,尽量不使用非公知的缩略词。英文标题内容应尽可能与中文对应一致,且各个实词的首字母大写。中英文摘要应具有独立性和自明性,尽量完整、准确地呈现论文的主要内容。研究类论文的摘要撰写应采用IMRAD结构,即分目的、方法、结果和结论四部分。

1.4 正文中方法部分应介绍清楚,尤其是改进和创新的方法及操作步骤,以便他人可重复。研究中所用试剂

应注明生产厂家和批次,仪器应注明制造商和型号。实验分组应详细说明,应设空白对照、阴性对照及阳性对照。正文中结果叙述应与之前的方法陈述相对应,并包含具体的统计学分析数据。有关实验结果的讨论性文字应放在讨论部分。

1.5 应用恰当的统计学方法,统计学符号按GB/T 3358—2009《统计学词汇及符号》的有关规定书写。如:(1)正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布时用中位数 M (四分位数)表示;(2)计数资料的卡方检验应给出 χ^2 值;(3)两组比较的独立样本 t 检验应给出 t 值;(4)多组比较的 F 检验应给出 F 值,然后组内两两比较应用LSD- t 检验和SNK- q 检验等,给出相应的 t 值或 q 值;(5)相关性分析应给出相关系数 r 值;(6)差异是否有统计学意义应给出具体的 P 值范围。

1.6 图表分别按其在正文中出现的先后次序连续编码。每幅图表应有中英文对照的图(表)题,图表内容及注解文字是中文。整个图表及其注解应具有自明性。照片图要求有足够的清晰度和对比度,论文中需单张陈列高清原图。组织病理学照片还需注明放大倍数(或给出标尺)和染色方法。非原创图表必须提供授权使用证明。

1.7 计量单位按《中华人民共和国法定计量单位》要求书写,并以单位符号表示。数字执行GB/T 15835—2011标准中关于出版物上数字用法的规定,公历世纪、年代、年、月、日、时刻和计数、计量均采用阿拉伯数字表示。

1.8 科技名词应规范使用正确术语(参考术语在线, <https://www.termonline.cn>),药品名应用通用名(非商品名)。非常用缩略语需要在首次出现时按照“中文全称(英文全称,英文缩略词)”的格式介绍,后面直接用缩略语即可。

1.9 参考文献按GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依照其在正文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号上标在相应文字之后。文后参考文献的书写格式举例如下:

(1) 期刊:

[1] 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.

- [2] 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.
- (2) 专著:
- [3] 邓小明, 姚尚龙, 于布为, 等. 现代麻醉学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2014:476-483, 503-509.
- [4] 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.
- (3) 电子公告:
- [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=d281d6b63f249a51>.
- (4) 标准:
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物 福利伦理审查指南: GB/T 35892—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- (5) 学位论文:
- [7] 张观坡. 谷氨酸兴奋毒性在糖尿病大鼠选择性 nNOS 神经元减少及胃轻瘫中的作用[D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
- (6) 专利:
- [8] 邓欣, 白璐, 李森, 等. 一种小鼠卵巢分离及卵母细胞培养装置: CN201711455059.X[P]. 2017-12-28.
- (7) 报纸:
- [9] 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>.
- (8) 会议论文集:
- [10] 曾桂英, 金成, 任东青, 等. 电磁脉冲辐射引起小鼠免疫功能和脾脏超微结构的变化 [C]. 宁波: 第七届全国防原医学专业委员会第五届中国毒理学会放射毒理专业委员会学术会议, 2004.
- (9) 档案 (包括条例、法规及公文):
- [11] 国家科学技术委员会. 实验动物管理条例 (第 3 次修订) [A/OL]. (2017-03-01) [2022-01-10]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2017/content_5219148.htm.

2 投稿要求及注意事项

2.1 请通过本刊官网 (<http://www.slarc.org.cn/dwyx>) 的在线投稿系统 (官网首页左上角“作者投稿”) 进行投稿, 投稿前请仔细阅读官网首页的“投稿指南”中相关说明。投稿时按照系统要求步骤填写所有正确信息。

2.2 来稿须是作者独立取得的原创性成果, 无抄袭、泄密、一稿多投和署名争议问题, 且保证文稿涉及的所有实验材料、方法和结果数据均真实可信。本刊杜绝第三方代投、代写行为。如发现来稿涉及学术不端行为, 将撤稿处理, 并通报作者单位。

2.3 作者署名及单位信息需在投稿时确认, 后期不再接受调整与修改。在线投稿时请填写所有署名作者的完整信息, 并在文稿末尾说明所有署名作者的具体贡献及有无利益冲突。署名即是确认知情并能够对本文负责。

2.4 本刊施行三审三校制度, 并严格遵守出版伦理相关标准, 包括 COPE、ICMJE 等国际规范。作者投稿后可在线查询审稿进度, 若有疑问可直接联系编辑部。作者如欲改投他刊, 请先与本刊联系说明。退修稿件逾期 3 个月作者未回复时, 视作自动撤稿。

2.5 依照《著作权法》有关规定, 本刊可对录用稿件做文字方面的编辑加工 (修改或删节)。凡有涉及原意的修改, 会请作者审核; 送印前, 还会请作者认真校对清样。逾期未回复者视为同意修改。

2.6 本刊为中国科技论文统计源期刊 (即中国科技核心期刊), 并入编国内外多个重要数据库。作者向本刊投稿, 即视为愿意将著作财产权 (包括但不限于复制权、发行权、翻译权、汇编权、改编权、信息网络传播权等) 授予本刊, 而且本刊有权将上述权利转授给第三方, 不同意入编或上网者请在投稿时声明。

2.7 本刊所有来稿免收审稿费, 但需要作者按要求提交必要材料, 如单位审核同意后的投稿介绍信、科研伦理审查表等。稿件确认录用后, 需付论文发表费, 并签署版权转让协议书。稿件刊出后, 编辑部一次性支付稿酬 (包含所有版权转让的报酬), 并赠当期杂志 2 册。

2.8 本刊官网可实现网络首发及优先在线出版, 作者如有需要可在投稿时说明。新刊出版后, 作者可通过本刊官网、中国知网、万方、维普和超星等多家数字平台进行文献检索。本刊官网上还可免费下载所有过刊文献。

2.9 本刊联系地址: 上海市金科路 3577 号, 《实验动物与比较医学》编辑部 (邮政编码: 201203)。电话: (021) 50793648-81018, 50793657。E-mail: hjb50793657@163.com。投稿咨询 QQ 群: 750879769。

《实验动物与比较医学》编辑部

2022 年 1 月更新

《实验动物与比较医学》2022年专题征稿启事

2022年是《实验动物与比较医学》继2021年创刊40周年之后另一个十年新征程的开局之年,也是我们新一届编辑委员会组建后以专家力量办刊的新一年。本刊将继续牢记初心、守正创新,努力提高期刊的学术服务及引领能力,为我国实验动物与比较医学的科技发展、人才培养,搭建更高质量的学术交流平台。

现根据本刊专业特色及国内外研究前沿进展,特向全国范围内的实验动物科技工作者及生物医药研发学者公开征稿。选题方向及具体要求如下:

一 选题方向(包括但不限于,题目可自拟)

- (1) 各地实验动物科技发展专题(续);
- (2) 国内外实验动物与比较医学优秀团队介绍专题;
- (3) 鸡、鸭、猫、羊、猪等中大型实验动物专题;
- (4) 器官移植及再生医学专题;
- (5) 显微手术、麻醉等动物实验技术专题;
- (6) 医用材料与医疗器械研发相关的实验动物专题;
- (7) 动物行为与精神医学专题;
- (8) 实验动物设施设备研发与生物安全管理专题;
- (9) 人源化疾病动物模型专题;
- (10) 比较医学方法专题。

二 稿件要求

- (1) 来稿必须为原创论文,撰写格式同本刊常规论著或综述。可至本刊官网免费下载相关文献以对照参考。
- (2) 稿件准备须符合本刊《稿约》及国际医学期刊编辑委员会(ICMJE)制定的《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》要求(请见本刊官网首页“投稿指南”)。
- (3) 所有稿件均请至本刊官网在线投稿,并注明拟投专题或方向(可自拟)。

三 论文发表及评奖

- (1) 欢迎承接国家重大专项及省部级基金资助课题的优秀团队同时多篇来稿,本刊将开通绿色通道,优先审稿和刊发。
- (2) 针对专题来稿,将特邀相关编委专家进行学术把关及点评。
- (3) 优先评选优秀论文,并通过各大学术平台进行多渠道、多媒体推广与宣传。

投稿咨询QQ群号:750879769。编辑部联系电话:021-50793637。

期刊官网地址: <http://www.slarc.org.cn/dwyx>。

《实验动物与比较医学》编辑部

2022年1月