

第一节 贫血动物模型

贫血是指循环血液单位容积内的血红蛋白、红细胞计数或红细胞比容（压积）低于正常值的下限。这个正常值可因不同的性别、年龄、生活地区海拔高度的不同以及生理性血浆容量的变化而有所差异。

贫血动物模型种类包括：①小鼠缺铁性贫血模型；②肾大部分切除致大鼠贫血模型；③腺嘌呤致大鼠贫血模型；④小鼠失血性贫血模型；⑤大鼠失血性贫血模型；⑥兔失血性贫血模型；⑦狗失血性贫血模型；⑧顺铂致大鼠贫血模型；⑨苯肼致小鼠溶血性贫血模型；⑩苯肼致兔溶血性贫血模型；⑪大鼠运动性贫血模型；⑫镉中毒致小鼠贫血模型。

一、小鼠缺铁性贫血模型

铁在机体代谢中有着特殊的营养和生理生化作用，通过低铁饲料的喂养来诱发小鼠对铁的摄取不足，从而导致小鼠缺铁性贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[1] KM 小鼠，20~22g，雄性。小鼠喂饲低铁饲料及蒸馏水，每只隔日由尾静脉放血 4 滴，连续进行 20d。

【观测指标与分析】（1）红细胞计数 模型组 RBC 数显著性低于正常对照水平。

（2）血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

（3）红细胞压积测定 模型组 HCT 显著性低于正常对照水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[2] KM 小鼠，18~22g，雌性。小鼠喂饲低铁饲料及蒸馏水，每只隔日由尾静脉放血 10 滴，连续进行 14d。

【观测指标与分析】（1）血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著性低于造模前水平。

（2）红细胞压积测定 造模后 HCT 显著性低于造模前水平。

（3）红细胞内游离原卟啉含量测定 造模后红细胞内游离原卟啉含量显著性高于造模前水平。

（4）血清铁含量测定 造模后血清铁含量显著性低于造模前水平。

二、肾大部分切除致大鼠贫血模型

通过手术切除大鼠大部分肾脏，减少红细胞生成素（EPO）的分泌从而导致肾性贫血模型。

【模型制作方法】^[3] SD 大鼠，220~250g，雄性。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠 50mg/kg 麻醉，无菌条件下进行整个右肾与左肾上下二级切除术。术后 2.5 个月进行检查。

【观测指标与分析】 (1) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 水平变化不显著。

(2) 血清尿素氮 (BUN) 含量测定 造模后血清 BUN 水平变化不显著。

三、腺嘌呤致大鼠贫血模型

通过药物腺嘌呤的肾毒性使大鼠肾脏受损, 减少红细胞生成素 (EPO) 的分泌从而导致肾性贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[4] Wistar 大鼠, 180~220g, 雄性。参考 Yolozaawa 方法, 将 3% 的腺嘌呤 10ml/(kg·d) 给大鼠灌胃, 连续 30d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著性低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

(3) 红细胞压积测定 模型组 HCT 显著性低于正常对照水平。

(4) 血液红细胞生成素 (EPO) 含量测定 模型组 EPO 显著性高于造模前水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[5] Wistar 大鼠, 180~220g, 雌雄兼用。将腺嘌呤粉剂添到饲料干粉中混匀, 做成腺嘌呤含量为 0.4% 的块料, 喂饲大鼠 120d。

【观测指标与分析】 (1) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著低于造模前水平。

(2) 红细胞压积测定 造模后 HCT 显著低于造模前水平。

四、小鼠失血性贫血模型

通过人为放血导致小鼠血容量和血细胞的减少, 从而导致动物出现短期的贫血特征, 以此制作失血性贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[6] NIH 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。每只小鼠放尾血 25 滴左右, 放血后压迫止血, 为了加速造模, 每日给小鼠以精面粉进行喂养, 连续 14d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著低于正常对照水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[7] ICR 小鼠, 体重 18~22g, 雄性。每只小鼠每天剪尾血放血 1 次, 每次放血量体重的 1%, 连续 7d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著低于正常对照水平。

五、大鼠失血性贫血模型

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[8] SD 大鼠, 体重 180~250g, 雄性。每 48h 断尾放血一次, 连续 5 次, 每次 1.5~2.0ml。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 显著性低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

(3) 网织红细胞计数 模型组 Ret 数显著性高于正常对照水平。

(4) 血清铁含量测定 模型组与正常组无显著性差异。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[9] SD 大鼠, 体重 180~220g, 雌性。每天尾端放血 2.0ml, 连续 5d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 显著低于正常对照水平。

(3) 网织红细胞计数 模型组 Ret 数显著高于正常对照水平。

(4) 血清铁含量测定 模型组血清铁含量显著低于正常对照水平。

六、兔失血性贫血模型

【模型制作方法】^[10] 日本大耳白兔, 3 月龄, 体重 2~2.5kg, 雌雄各半。根据体重估计全血容量, 从兔耳静脉放全血容量的 1/3, 每天 1 次, 连续 2d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后 RBC 数显著低于造模前水平。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著低于造模前水平。

七、狗失血性贫血模型

【模型制作方法】^[11] 比格狗, 成年, 雌雄兼用。按体重 70ml/kg 计算全身血量, 从颈静脉行负压采血, 采血量为全身血量的 30%。采血完毕即输入等量生理盐水, 所采血液按 ACD-B 法血液保养液抗凝, 离心 10min, 去除上层血浆加入与红细胞等体积 GMA 红细胞添加液, 于采血后 2h 自体回输。

【观测指标与分析】 红细胞计数 比格狗在采集 30% 血量后红细胞的含量明显降低, 与采血前比有显著性差异, 证明失血性贫血的动物模型已经建立。

八、顺铂致大鼠贫血模型

顺铂 (PDD) 具有明显的肾毒性, 可减少红细胞生成素 (EPO) 的分泌, 也可直接杀伤外周血细胞从而导致大鼠贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[12] Wistar 大鼠, 体重 140~160g, 雄性。大鼠腹腔注射顺铂 5mg/kg, 间隔一周后再次腹腔注射顺铂 5mg/kg。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后第 2 周开始 RBC 显著性低于正常对照水平, 一直持续到第 5 周。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后第 2 周开始 Hb 含量显著性低于正常对照水平, 一直持续到第 5 周。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[13] Wistar 大鼠, 体重 140~160g, 雌雄兼用。大鼠一次性尾静脉注射顺铂 8mg/kg。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后第 21 天开始 RBC 数显著性低于正常对照水平, 一直持续到第 49 天。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后第 21 天开始 Hb 含量显著性低于正常对照水平, 一直持续到第 49 天。

(3) 网织红细胞计数 造模后第 7 天 Ret 数显著性低于正常对照水平, 14d 显著升高, 49 天趋于正常。

(4) 血液红细胞生成素 (EPO) 含量测定 造模后第 7 天 EPO 显著性低于正常对照水平, 14d 显著高于正常水平, 49d 趋于正常。

九、苯胼致小鼠溶血性贫血模型

苯胼是一种强氧化剂,对 RBC 有缓慢进行性氧化损伤作用,尤其是干扰 RBC 内的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,使 RBC 易于崩解,最终造成机体内溶血性贫血。

【模型制作方法】 KM 小鼠,体重 18~22g,雌雄各半。小鼠一次性腹腔注射盐酸苯胼 90mg/kg。实验第 3 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后模型组 RBC 数显著低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后模型组 Hb 含量显著低于正常组。

十、苯胼致兔溶血性贫血模型

【模型制作方法】^[14] 中国白兔,体重 2.5~3.0kg,雌雄兼用。兔腹腔注射 5% 盐酸苯胼按 30mg/kg,每 5d 1 次,连续注射 3 次。造模第 60 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著低于正常对照水平。

(2) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著低于正常对照水平。

(3) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著低于正常对照水平。

(4) 血小板 (PLT) 计数 模型组 PLT 数显著低于正常对照水平。

(5) 网织红细胞计数 造模后模型组 Ret 数显著高于正常对照水平。

十一、大鼠运动性贫血模型

以过度运动引起血红蛋白浓度下降,从而导致机体一系列生理变化的病理性的损伤来建立贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[15] SD 大鼠,体重 40~50g,雌雄各半。大鼠每天在国产动物跑台上进行下坡跑运动 90min,速度为 16m/min,坡度为 -16° ,跑台尾部接有 SC-III 型多功能生理刺激器,可产生 10~40V 的电刺激 (1/8s),电刺激仅在大鼠运动前和运动后期使用。运动结束后放回原笼中,喂饲普通大鼠饲料,自由进食、饮水,连续运动 4 周。实验第 4 周末检查。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后 RBC 数显著低于造模前水平。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著低于造模前水平。

(3) 红细胞压积测定 造模后 HCT 显著低于造模前水平。

(4) 血清铁含量测定 造模后血清铁含量显著低于造模前水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[16] Wistar 大鼠,体重约 300g,雄性。大鼠进行递增负荷跑台训练 (BCPT-96 型) 5 周,跑台坡度为 0,速度为 30m/min,每周训练 6d,前 2 周每天训练 1 次,后 3 周每天早晚各 1 次。训练计划为:第 1 次训练时间为 1min,之后以 2min/次的速度递增,最后 1 次训练时间为 95min。大鼠如果训练过程中出现力竭症状:连续施加机械刺激至大鼠不能继续跑动、下跑台后腹部触地严重,呈“甲鱼状”,则允许其休息 2~5min。实验第 5 周末检查。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 造模后 RBC 数显著低于造模前水平。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著低于造模前水平。

(3) 红细胞压积测定 造模后 HCT 显著低于造模前水平。

十二、镉中毒致小鼠贫血模型

镉是一种人体非必需的微量元素,它对肾、肝、脑、骨骼、睾丸及血液系统均可产生毒

害作用, 利用其对血液系统的损伤毒性建立小鼠贫血模型。

【模型制作方法】^[17] ICR 小鼠, 体重 16~18g, 雄性。小鼠皮下注射 0.4mg/kg 用蒸馏水配置的氯化镉溶液, 每天 1 次, 每周连续 4d, 连续染毒 7 周。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组造模后 RBC 数明显降低。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量显著低于正常对照水平。

(3) 红细胞压积测定 模型组造模后 HCT 水平明显降低。

参 考 文 献

- [1] 张秀芹, 朱燕, 张强等. SXL 颗粒对缺铁性贫血小鼠治疗作用观察. 预防医学文献信息, 2003, 9 (1): 57.
- [2] 张萍, 韦娜, 糜漫天等. 铁和复合微量营养素改善缺铁性贫血的实验研究. 微量元素与健康研究, 2002, 19 (1): 3.
- [3] 张庆怡, 张介玉, 吴青伟等. 补肾方加全胎液治疗肾性贫血的临床与实验研究. 中国中西医结合杂志, 1996, 16 (6): 330.
- [4] 姚林, 陈贵良, 陈则永等. 泡利芬铁对缺铁性贫血成年大鼠全血铁恢复及其铁的相对生物利用率的实验研究. 实验动物科学与管理, 1999, 16 (3): 23.
- [5] 刘永学, 魏汉东, 吴祖泽等. 腺嘌呤诱发大鼠肾性贫血模型的特点及鉴定. 中华肾脏病杂志, 1998, 14 (1): 53.
- [6] 桂蜀华, 梁颂名. 慢性血虚模型的建立及加味当归补血汤对其的影响. 中国中医药科技, 2000, 7 (5): 326.
- [7] 张信岳, 郑高利, 龚维桂等. 升气养元糖浆药效学实验研究. 浙江中医学院学报, 2000, 24 (2): 49.
- [8] 汤琤, 赵香兰, 彭彬. 动物贫血模型制备的探讨. 中国药理学通报, 1995, 11 (2): 171.
- [9] 陈云亮, 钱伯初, 王根才等. 生血宁片治疗贫血模型鼠的实验研究. 湖北中医学院学报, 2005, 7 (1): 11.
- [10] 王秋静, 李吉平, 李宏等. “康利血”片对兔及小鼠失血性贫血的促进恢复作用. 白求恩医科大学学报, 1998, 24 (6): 592.
- [11] 吕美铭, 钱开诚, 陆萍等. 病毒灭活红细胞纠正狗失血性贫血试验. 上海实验动物科学, 2002, (3): 185.
- [12] 高丽萍, 李恩. 顺铂诱发大鼠贫血的实验研究. 邯郸医学专学报, 1995, 8 (3): 209.
- [13] 高丽萍, 李恩. 益气补肾中药抑制顺铂所致大鼠贫血的实验研究. 中国中医基础医学杂志, 1996, 2 (3): 38.
- [14] 张圣明, 李锋杰, 黄冠文等. 杂种兔贫血模型的建立. 潍坊医学院学报, 1996, 18 (1): 5.
- [15] 黄立新, 吕小川. 螺旋藻对运动性贫血的恢复实验. 体育科技, 1999, 20 (2): 25.
- [16] 赵杰修, 田野, 曹建民等. 不同运动方式对大鼠血红蛋白浓度的影响. 中国运动医学杂志, 2004, 23 (4): 436.
- [17] 马振祥, 姜声扬, 张卫兵. 实验性镉中毒致小鼠血液学指标改变及硫酸锌的保护作用. 中国职业医学, 2004, 31 (5): 36.

(吴建明)

第二节 再生障碍性贫血动物模型

再生障碍性贫血 (AA), 是由于生物、化学、物理等因素导致造血组织功能减退或衰竭而引起全血细胞减少, 临床表现为贫血、出血、感染等症状的一组综合征, 是造血系统比较常见的疾病。再生障碍性贫血有急性、慢性之分, 急性再生障碍性贫血呈进行性加重, 常伴严重感染、内脏出血; 而慢性再生障碍性贫血、感染、出血等症状均相对较轻。

再生障碍性贫血动物模型种类包括: ①5-氟尿嘧啶致大鼠再生障碍性贫血模型; ②⁶⁰Co-γ 射线照射致小鼠再生障碍性贫血模型; ③⁶⁰Co-γ 射线照射致大鼠再生障碍性贫血模型; ④环磷酰胺致小鼠再生障碍性贫血模型; ⑤环磷酰胺致大鼠再生障碍性贫血模型; ⑥苯致小鼠再生障碍性贫血模型; ⑦苯致大鼠再生障碍性贫血模型; ⑧复合因素致小鼠再生障碍性贫血模型; ⑨复合因素致大鼠再生障碍性贫血模型; ⑩复合因素致兔再生障碍性贫血模型; ⑪白消安致小鼠再生障碍性贫血模型; ⑫免疫介导致小鼠再生障碍性贫血模型; ⑬免疫介导致兔再生障碍性贫血模型。

一、5-氟尿嘧啶致大鼠再生障碍性贫血模型

通过 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 抑制骨髓造血及对外周血象的损伤, 建立大鼠再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[1] SD 大鼠, 体重 140~160g, 雌性。单次由大鼠尾静脉注射 5-Fu150mg/kg。

【观测指标与分析】 (1) 血红蛋白 (Hb) 含量测定 造模后第 7 天 Hb 含量明显下降, 第 14 天达最低值, 第 21 天开始恢复。

(2) 网织红细胞 (Ret) 计数 造模后第 7、14、21 天采大鼠尾静脉血, 用试管法测定 Ret。造模后第 7 天网织红细胞数下降最显著, 第 14 天已高于正常对照水平, 第 21 天又呈下降趋势。

(3) 血清红细胞生成素 (EPO) 含量测定 造模后第 7 天 EPO 水平明显升高, 第 14 天达最高值, 而第 21 天开始恢复。

二、⁶⁰Co-γ 射线照射致小鼠再生障碍性贫血模型

通过⁶⁰Co-γ 射线损伤骨髓造血干细胞及各系统幼稚细胞, 直接损伤靶细胞的 DNA, 杀伤外周血细胞建立小鼠再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[2] BALB/c 小鼠, 8~12 周龄, 体重 18~22g, 雄性。给小鼠一次性⁶⁰Co-γ 射线均匀全身照射, 总吸收剂量 2.0Gy。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 经⁶⁰Co 照射后, 模型组第 3 天 RBC 下降最明显, 第 8 天已恢复到较高水平。

(2) 白细胞计数 经⁶⁰Co 照射造模后, 模型组第 3 天 WBC 数下降最明显, 第 8 天仍为低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 经⁶⁰Co 照射造模后, 模型组第 3 天 Hb 含量下降最明显, 第 8 天略有回升。

(4) 血小板计数 经⁶⁰Co 照射造模后, 模型组第 3 天 PLT 数下降最明显, 第 8 天上升到正常对照水平。

(5) 骨髓有核细胞计数 颈椎脱臼处死小鼠, 剥离出一侧股骨, 用 1ml 注射器 (连有 6 号半针头) 吸取一定体积的 3% 醋酸液, 冲出股骨中的全部骨髓细胞。最后让细胞悬液通过带 4 号针头的注射器, 使细胞在悬液中充分分散, 测定骨髓细胞悬液中的有核细胞数。结果显示, 造模后模型组第 3 天 BMC 数下降最明显, 第 8 天有所上升, 但仍显著性低于正常对照水平。

三、⁶⁰Co-γ 射线照射致大鼠再生障碍性贫血模型^[9]

通过⁶⁰Co-γ 射线对动物骨髓造血干细胞及各系统幼稚细胞, 直接损伤靶细胞的 DNA, 杀伤外周血细胞建立大鼠再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[3] SD 大鼠, 体重 140~160g, 雄性。采用全身一次性照射⁶⁰Co-γ 射线, 总吸收剂量 8.0Gy。以此建立贫血模型。造模后第 22 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 粒系祖细胞 (CFU-GM) 计数 模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(2) 红系祖细胞/CFU-E 计数 模型组 CFU-E 数显著性低于正常对照水平。

四、环磷酰胺致小鼠再生障碍性贫血模型

通过环磷酰胺干扰骨髓造血细胞的 DNA 合成, 直接影响髓内幼稚细胞的分裂与增殖, 损伤外周血细胞建立小鼠再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[2] BALB/c 小鼠, 8~12 周龄, 体重 18~22g, 雄性。小鼠一次性腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg 建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组第 3d RBC 数下降明显, 第 8 天仍保持在低值水平。

- (2) 白细胞计数 模型组第 3 天 WBC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。
- (3) 血红蛋白含量测定 模型组第 3 天 Hb 含量下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。
- (4) 血小板计数 模型组第 3 天 PLT 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。
- (5) 骨髓有核细胞计数 模型组第 3 天 BMC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

五、环磷酰胺致大鼠再生障碍性贫血模型

通过环磷酰胺干扰骨髓造血细胞的 DNA 合成,直接影响髓内幼稚细胞的分裂与增殖,损伤外周血细胞建立再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[4] SD 大鼠,体重 200~250g,雌雄兼用。大鼠腹腔注射环磷酰胺 70mg/kg,一日一次,连续注射 2 次。造模后第 6 天检查。

【观测指标与分析】 骨髓有核细胞计数 模型组第 6 天 BMC 数下降明显。

六、苯致小鼠再生障碍性贫血模型

苯的代谢产物对骨髓中分裂最活跃的幼稚细胞有明显的毒性作用,抑制分裂,影响造血功能,而且能破坏外周血细胞,从而建立再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[5] CD1 小鼠,10 周龄,体重 35~40g,雄性。模型 1 组、模型 2 组、模型 3 组、模型 4 组小鼠苯的剂量分别为 0.5ml/kg、1.0ml/kg、1.5ml/kg、2.0ml/kg,从小鼠背侧皮下注射苯油混合液,每周 3 次,共注射 25 次。于末次注射后第 3 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著性低于正常对照水平。

(2) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著性低于正常对照水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

(4) 血小板计数 模型组 PLT 数显著性低于正常对照水平。

(5) 网织红细胞计数 模型 4 组 Ret 数显著降低。

七、苯致大鼠再生障碍性贫血模型

【模型制作方法】^[6] Wistar 大鼠,体重 180~220g,雌性。将苯溶解于花生油,分别采用 400mg/kg、800mg/kg 和 1600mg/kg 3 个剂量灌胃给予大鼠,给药容量为 10ml/kg,连续 23 周。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 苯剂量为 1600mg/kg、800mg/kg 和 400mg/kg 时,大鼠白细胞降至实验开始时的 50% 分别需要 3 周、6 周和 9 周。

(2) 红细胞计数 给予苯 2 周后,剂量为 1600mg/kg 的大鼠 RBC 数低于空白对照组和溶剂组,但第 14 周后逐渐升高,苯 400mg/kg 组 RBC 数的下降速度慢,第 11 周后与高剂量组相似。

(3) 血小板计数 给予苯 3 周后,苯剂量 1600mg/kg 组 PLT 数低于空白对照组和溶剂对照组,其后继续下降。400mg/kg 组于第 6 周后显著下降。

(4) 脾脏重量系数测量 造模 23 周后检查。1600mg/kg 组及 400mg/kg 组脾脏重量系数均显著下降。

八、复合因素致小鼠再生障碍性贫血模型

综合采用⁶⁰Co、环磷酰胺、氯霉素(CH)或相互间的组合,通过抑制骨髓造血细胞生成和损伤外周血细胞来建立再生障碍性贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[2] BALB/c 小鼠,8~12 周龄,体重 18~22g,雄性。给小鼠一次性⁶⁰Co-γ

射线均匀全身照射,总吸收剂量 4.0Gy,再一次性腹腔注射环磷酰胺 25mg/kg,建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】(1) 红细胞计数 模型组第 3 天 RBC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(2) 白细胞计数 模型组第 3 天 WBC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 3 天 Hb 含量下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(4) 血小板计数 模型组第 3 天 PLT 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(5) 骨髓有核细胞计数 模型组第 3 天 BMC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[7] BALB/c 小鼠,8~12 周龄,体重 18~22g,雄性。给小鼠一次性⁶⁰Co- γ 射线均匀全身照射,总吸收剂量 2.0Gy,再使用一次性腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg,建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】(1) 红细胞计数 模型组第 7 天 RBC 数下降明显,第 15 天仍保持在低值水平。

(2) 白细胞计数 模型组第 7 天 WBC 数下降明显,第 15 天仍保持在低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 7 天 Hb 含量下降明显,第 15 天仍保持在低值水平。

(4) 血小板计数 模型组第 7 天 PLT 数下降明显,第 15 天仍保持在低值水平。

(5) 骨髓有核细胞数 模型组第 7 天 BMC 数下降明显,第 11、15 天仍保持在低值水平。

(6) 粒系祖细胞 造模后第 15 天,模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(7) 红系祖细胞/BFU-E 计数 造模后第 15 天,模型组 BFU-E 数显著性低于正常对照水平。

(8) 巨核系祖细胞(CFU-Meg)计数 造模后第 15 天,模型组 CFU-Meg 数显著性低于正常对照水平。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[2] BALB/c 小鼠,8~12 周龄,体重 18~22g,雄性。给小鼠一次性⁶⁰Co- γ 射线均匀全身照射,总吸收剂量 2.0Gy,再使用一次性腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg 和氯霉素 30mg/kg 建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】(1) 红细胞计数 模型组第 3 天 RBC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(2) 白细胞计数 模型组第 3 天 WBC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 3 天 Hb 含量下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(4) 血小板计数 模型组第 3 天 PLT 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

(5) 骨髓有核细胞数计数 模型组第 3 天 BMC 数下降明显,第 8 天仍保持在低值水平。

4. 第四种方法

【模型制作方法】^[8] KM 小鼠,体重 18~22g,雌雄兼用。给小鼠一次性⁶⁰Co- γ 射线均匀全身照射,总吸收剂量 2.5Gy,照射后第 4、5、6 天均腹腔注射环磷酰胺 40mg/kg 和氯霉素 50mg/kg 建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】(1) 骨髓细胞核积分面积测定 照射后第 13 天处死小鼠,取下小鼠左侧股骨,常规组织切片后苏木精-伊红染色。采用图形分析系统测定骨髓细胞核积分面积。结果显示,模型组骨髓细胞核积分面积下降显著。

(2) 骨髓细胞核面积测定 模型组骨髓细胞核面积显著下降。

(3) 骨髓细胞核灰度测定 模型组骨髓细胞核灰度明显升高。

5. 第五种方法

【模型制作方法】^[7] BALB/c 小鼠, 8~12 周龄, 体重 18~22g, 雌雄兼用。小鼠连续 3 天腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg 与氯霉素 60mg/kg, 建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】(1) 红细胞计数 模型组第 5 天 RBC 数下降明显, 第 13 天仍保持在低值水平。

(2) 白细胞计数 模型组第 5 天 WBC 数下降明显, 第 13 天仍保持在低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 5 天 Hb 含量下降明显, 第 13 天仍保持在低值水平。

(4) 血小板计数 模型组第 5 天 PLT 数下降明显, 第 13 天仍保持在低值水平。

(5) 骨髓有核细胞计数 造模后, 模型组第 5、9、13 天 BMC 数均下降明显。

(6) 粒系祖细胞计数 造模后第 13 天, 模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(7) 红系祖细胞/BFU-E 计数 造模后第 13 天, 模型组 BFU-E 数显著性低于正常对照水平。

(8) 巨核系祖细胞 (CFU-Meg) 计数 造模后第 13 天, 模型组 CFU-Meg 数显著性低于正常对照水平。

6. 第六种方法

【模型制作方法】^[7] BALB/c 小鼠, 8~12 周龄, 体重 18~22g, 雌雄兼用。小鼠一次性皮下注射乙酰苯肼 (APH) 80mg/kg, 次日经⁶⁰Co- γ 射线一次性全身照射, 总吸收剂量 2.0Gy, 第 3 天一次性腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg。

【观测指标与分析】(1) 红细胞计数 模型组第 7 天 RBC 数下降明显, 第 15 天仍保持在低值水平。

(2) 白细胞计数 模型组第 7 天 WBC 数下降明显, 第 15 天仍保持在低值水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 7 天 Hb 含量下降明显, 第 15 天仍保持在低值水平。

(4) 血小板计数 模型组第 7 天 PLT 数下降明显, 第 15 天仍保持在低值水平。

(5) 骨髓有核细胞计数 模型组第 7 天 BMC 数下降明显, 第 11、15 天仍保持在低值水平。

(6) 粒系祖细胞计数 造模后第 15 天, 模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(7) 红系祖细胞/BFU-E 计数 造模后第 15 天, 模型组 BFU-E 数显著性低于正常对照水平。

(8) 巨核系祖细胞 (CFU-Meg) 计数 造模后第 15 天, 模型组 CFU-Meg 数显著性低于正常对照水平。

九、复合因素致大鼠再生障碍性贫血模型

利用 5-氟尿嘧啶富集干细胞和白消安损伤干细胞的作用, 采用两者联合用药的方案, 建立了大鼠造血干细胞衰竭型急性再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[9] Wistar 大鼠, 体重 180~250g, 雌性。大鼠一次性腹腔注射 5-氟尿嘧啶 150mg/kg, 5d 后灌胃给予白消安提取液 15mg/kg, 每周 1 次, 连续 3 周。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模后 WBC 数均显著下降。

(2) 血红蛋白含量测定 造模后 Hb 含量均显著下降。

(3) 红细胞压积测定 造模后 HCT 水平均显著下降。

(4) 骨髓有核细胞计数 造模后 BMC 数均显著下降。

(5) 脾脏重量系数测定 造模后第 1 周脾脏重量系数下降不明显, 第 2、3 周均显著下降。

十、复合因素致兔再生障碍性贫血模型

利用⁶⁰Co 抑制骨髓造血细胞生成和损伤外周血细胞及注射胸腺淋巴细胞导致免疫应答的方式建立兔再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[10] 中国白兔，体重 2.5~3.0kg，雌雄各半。以⁶⁰Co-γ 射线一次性亚致死量全身照射兔，于 24h 内从耳静脉输入已制好的异体胸腺淋巴细胞，注入量为 3×10^9 细胞悬液，生理盐水稀释 1 倍输注。射线照射后第 60 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著性下降。

(2) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著性下降。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性下降。

(4) 血小板计数 模型组 PLT 数显著性下降。

(5) 网织红细胞计数 模型组 Ret 数显著性下降。

十一、白消安致小鼠再生障碍性贫血模型

通过白消安损伤骨髓造血干细胞及造血微环境来建立小鼠再生障碍性贫血模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[11] 近交系 615 小鼠，13 周龄，体重 19~23g，雌雄兼用。给小鼠一次性腹腔注射白消安 15mg/kg 建立再生障碍性贫血模型。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组 WBC 水平显著性下降。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量下降不明显。

(3) 骨髓有核细胞数计数 模型组 BMC 数下降明显。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[12] KM 小鼠，体重 18~22g，雌雄兼用。小鼠腹腔注射白消安 15mg/kg，1 周 1 次，连续注射 5 周。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著性低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

(3) 血小板计数 模型组 PLT 数显著性低于正常对照水平。

(4) 网织红细胞计数 模型组 Ret 数显著性低于正常对照水平。

(5) 粒系祖细胞计数 模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(6) 红系祖细胞/BFU-E 计数 模型组 BFU-E 数显著性低于正常对照水平。

(7) 巨核系祖细胞 (CFU-Meg) 计数 模型组 CFU-Meg 数显著性低于正常对照水平。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[13] LACA 小鼠，8~10 周龄，体重 17~20g，雄性。用蒸馏水将白消安配成 0.05% 混悬液，小鼠按 4ml/(kg·d) 灌胃，连续 45d。

【观测指标与分析】 (1) 红细胞计数 模型组 RBC 数显著性低于正常对照水平。

(2) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著性低于正常对照水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著性低于正常对照水平。

(4) 血小板计数 模型组 PLT 数显著性低于正常对照水平。

(5) 粒系祖细胞计数 模型组 CFU-GM 数显著性低于正常对照水平。

(6) 红系祖细胞/CFU-E 计数 模型组 CFU-E 数显著性低于正常对照水平。

(7) 成纤维细胞祖细胞 (CFU-F) 计数 模型组 CFU-F 数显著性高于正常对照水平。

(8) 造血干细胞计数 造模后处死小鼠制备骨髓细胞悬液，检测 CFU-Mix 数（培养方法同 CFU-GM）。结果显示：模型组 CFU-Mix 数显著性低于正常对照水平。

十二、免疫介导致小鼠再生障碍性贫血模型

通过⁶⁰Co 辐射造成小鼠造血细胞的凋亡，同时又损伤造血微环境，然后输入具有免疫

活性的淋巴细胞后,可使造血微环境的损伤加重,病变持续存在,最终导致造血功能不能重建,从而形成再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[14] BALB/c 小鼠,8~12 周龄,体重 16~20g,雌雄兼用。DBA/2 小鼠,6~14 周龄,雌雄兼用,作为淋巴细胞供者。取 DBA/2 小鼠,脱颈处死,用 75%乙醇浸泡消毒 10min 后取出胸腺及颈、腹股沟等处淋巴结,加生理盐水清洗,剪碎,轻轻碾碎,用 200 目尼龙网过滤,使其成单细胞悬液,计数后配成 5×10^6 个/ml 浓度,并且胸腺细胞、淋巴细胞之比为 1:2,用台盼蓝鉴定细胞活性为 99%。BALB/c 小鼠,经 ^{60}Co - γ 射线 6.0Gy 全身照射后 1~4h 内由尾静脉输注上述胸腺、淋巴结混合细胞悬液 0.2ml (细胞数为 1×10^6 个/只)。实验第 15 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著低于正常对照水平。

(2) 血红蛋白含量测定 模型组 Hb 含量显著低于正常对照水平。

(3) 骨髓有核细胞数 模型组 BMC 数下降明显。

(4) 粒系祖细胞计数 模型组 CFU-GM 数显著低于正常对照水平。

(5) 红系祖细胞/BFU-E 计数 模型组 BFU-E 数显著低于正常对照水平。

十三、免疫介导致兔再生障碍性贫血模型

通过 ^{60}Co 辐射造成兔造血细胞的凋亡,同时又损伤造血微环境,然后输入具有免疫活性的淋巴细胞后,可使造血微环境的损伤加重,病变持续存在,最终导致造血功能不能重建,从而形成再生障碍性贫血模型。

【模型制作方法】^[15] 中国白兔,体重 2.5~3.0kg,雌雄兼用。取一只兔处死,在胸部剃毛,常规消毒,无菌取出胸腺,生理盐水洗涤血液,剥去结缔组织被膜,将胸腺实质置于 200 目铜网上轻轻研磨过滤两次,4 号针头抽滤制成单细胞悬液,台盼蓝鉴定细胞活性为 97%以上,调整浓度至 1×10^9 个/ml 备用。其他兔接受 ^{60}Co - γ 射线 6.0Gy 全身照射,24h 内耳缘静脉注入上述 3×10^9 个细胞悬液。实验第 60 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 血红蛋白含量 造模后 Hb 含量显著低于正常对照水平。

(2) 红细胞计数 造模后 RBC 数显著低于正常对照水平。

(3) 白细胞计数 造模后 WBC 数显著低于正常对照水平。

(4) 血小板计数 造模后 PLT 数显著低于正常对照水平。

(5) 网织红细胞计数 造模后 Ret 数显著低于正常对照水平。

参 考 文 献

- [1] 高丽萍,柴锡庆,苏安英.益气补肾中药抑制 5-氟尿嘧啶所致大鼠贫血的实验研究.中国中医基础医学杂志,2002,8(4):46.
- [2] 陈志伟,祝彼得,严苏纯.骨髓抑制性贫血小鼠模型的研究.中国比较医学杂志,2006,16(5):260.
- [3] 孙伟正,王巍,孙伟玲.补髓生血颗粒对再生障碍性贫血大鼠造血祖细胞的影响.中医药信息,2006,23(4):52.
- [4] 杨红原,赵西平.补血生髓散药效学实验研究.陕西中医学院学报,2004,27(6):75.
- [5] 杨开颜,俞康,任行舟等.氮磷汀对苯诱发小鼠再生障碍性贫血的保护作用.医学研究杂志,2006,35(2):15.
- [6] 唐小江,王致,李南春等.苯致白细胞减少大鼠模型的复制.中国职业医学,2006,33(3):180.
- [7] 刘啸,祝彼得,徐浩等.再生障碍性贫血小鼠造模方法的实验研究.甘肃中医学院学报,2004,21(4):17.
- [8] 张弘,李飞,张小霞等.泻脏方法促进再生障碍性贫血小鼠骨髓造血功能恢复.中国临床康复,2006,10(19):97.
- [9] 赵钧铭,褚建新,丁顺利等.5-氟尿嘧啶与白消安合用诱导建立大鼠急性再生障碍性贫血模型.中华血液学杂志,2001,22(4):202.
- [10] 张圣明,李锋杰,黄冠文等.杂种兔贫血模型的建立.潍坊医学院学报,1996,18(1):5.

- [11] 王运律, 吴正翔. 补肾活血方慢性对骨髓障碍 (CMA) 小鼠的实验研究. 天津中医, 1995, 12 (6): 32.
- [12] 朱跃岚, 侯德明, 陈密文等. 骨髓生血颗粒对小鼠实验性再生障碍性贫血病理形态变化的影响. 北京中医药大学学报, 2002, 25 (5): 30.
- [13] 周霁祥, 王天恩, 杨经敏等. 益肾生血片治疗再生障碍性贫血的实验研究. 中国中西医结合杂志, 1999, 19 (3): 170.
- [14] 梁毅, 鲁新华, 陈如泉. 地甘口服液对免疫介导再生障碍性贫血小鼠胸腺细胞增殖周期的影响. 中国中西医结合杂志, 2000, 20 (9): 689.
- [15] 张圣明, 李锋杰, 黄冠文等. 杂种贫血模型的建立. 潍坊医学院学报, 1996, 18 (1): 5.

(赵 威 吴建明)

第三节 白细胞减少症动物模型

白细胞减少症是指外周血中白细胞总数少于 $4.0 \times 10^9/L$, 粒细胞总数绝对值低于 $1.8 \times 10^9/L$, 是临床常见的一种疾病, 可由多种原因引起, 其中尤以放、化疗及经常接触化学物品、药品及放射线等因素为常见。

白细胞减少症动物模型种类包括: ① $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致小鼠白细胞减少症模型; ② $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致大鼠白细胞减少症模型; ③ $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致狗白细胞减少症模型; ④ $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致猴白细胞减少症模型; ⑤环磷酰胺致小鼠白细胞减少症模型; ⑥环磷酰胺致大鼠白细胞减少症模型; ⑦环磷酰胺致狗白细胞减少症模型; ⑧环磷酰胺致兔白细胞减少症模型; ⑨5-氟尿嘧啶致小鼠白细胞减少症模型; ⑩ $^{137}\text{Se}-\gamma$ 射线致小鼠白细胞减少症模型; ⑪T-2 毒素致猫白细胞减少症模型; ⑫X 射线致小鼠白细胞减少症模型; ⑬X 射线致兔白细胞减少症模型; ⑭阿糖胞苷致小鼠白细胞减少症模型; ⑮苯致小鼠白细胞减少症模型; ⑯苯致大鼠白细胞减少症模型; ⑰苯致兔白细胞减少症模型。

一、 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致小鼠白细胞减少症模型

通过 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线损伤骨髓造血干细胞及各系统幼稚细胞, 杀伤外周血白细胞建立白细胞减少症模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[1] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。将模型组动物分两次 ^{60}Co 照射, 剂量率为 0.7658Gy/min, 间距 60cm, 总吸收剂量 6.50Gy。

【观测指标与分析】 血白细胞 (WBC) 计数 照射后第 3 天其外周 WBC 数开始明显下降, 照射后第 7、9 天仍维持在明显的低值水平, 至第 13 天开始恢复, 第 3、7、9、13 天模型组白细胞数均显著低于正常组。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[2] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。对小鼠进行一次性 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线全身照射, 照射剂量率为 35.8CGY/min, 间距 75cm, 总剂量 7.5Gy。实验第 7 天检查。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 照射模型组外周 WBC 数极显著低于正常组水平。

(2) 体重称量 照射造模后第 7 天小鼠体重明显低于正常组。

(3) 脾脏重量系数测定 测定脾脏重量系数 (脾脏重量系数 = 脾重 ÷ 体重 × 100)。小鼠脾脏重量系数明显下降。

(4) 脾集落数 (CFU-S) 测定 颈椎脱臼处死小鼠并摘取脾脏固定于 Bouin 液中, 6h 后取出计 CFU-S 数。结果显示, 照射造模后小鼠 CFU-S 明显下降。

(5) 骨髓有核细胞数 (BMC) 测定 照射造模后小鼠 BMC 明显下降。

二、 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致大鼠白细胞减少症模型

同 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致小鼠白细胞减少症模型。

【模型制作方法】^[3] Wistar 大鼠, 体重 160~180g, 雄性。动物接受⁶⁰Co-γ 射线一次性均匀全身照射, 剂量率为 1.0Gy/min, 总吸收剂量 3.0Gy。

【观测指标与分析】 血白细胞计数 造模后第 1 天其外周 WBC 数明显下降, 第 4 天降至最低, 第 7 天略有回升。造模后第 1、4、7 天白细胞数均极显著低于照射前水平。

三、⁶⁰Co-γ 射线致狗白细胞减少症模型

同⁶⁰Co-γ 射线致小鼠白细胞减少症模型。

【模型制作方法】^[4] 狗, 体重 10~15kg, 雄性。用⁶⁰Co-γ 射线对屏蔽骨盆狗一次性照射 6.5Gy (剂量率为 0.39~0.65Gy/min)。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 照射造模后第 1 天其外周 WBC 数开始明显下降, 第 7 天其外周 WBC 数降至最低, 此后 WBC 略有回升, 但至第 29 天仍明显低于造模前水平。

(2) 淋巴细胞 (LYM) 计数 造模后第 1 天其外周 LYM 数开始明显下降, 第 3 天其外周 LYM 数降至最低, 第 5 天开始 LYM 略有回升, 但至第 29 天仍明显低于造模前水平。

(3) 血小板 (PLT) 计数 造模后第 1 天其外周 PLT 数开始明显下降, 第 9~12 天其外周 PLT 数降至最低, 第 14 天开始 PLT 略有回升, 但至第 29 天仍明显低于造模前水平。

(4) 外周血网织红细胞 (Ret) 计数 造模后第 3~5 天其外周 Ret 数降至最低, 第 7 天 Ret 开始回升, 第 9 天恢复至造模前水平。

四、⁶⁰Co-γ 射线致猴白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[5] 猕猴, 成年, 体重 4~6kg, 雌雄兼用。⁶⁰Co-γ 射线源一次性全身照射 3.0Gy, 照射距离 4m, 吸收剂量率 154.96cGy/min。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 造模后第 19 天达到最低值, 以后缓慢回升并在 20%~30%之间波动, 第 47 天仅为其照射造模前的 48.8%。

(2) 血小板 (PLT) 计数 PLT 水平在照射造模后 2 周内急剧下降, 第 15 天达最低值, 为照射前的 9.4%, 此后波动在 10%~20%之间, 第 47 天为 30%。

(3) RBC 计数、Hb 含量及血细胞比容测定 三个指标变化均为照射后 1 周内明显下降, 第 19 天有更强的下降趋势, 随后开始回升, 第 47 天照射模型组为照射前值的 80%左右。

五、环磷酰胺致小鼠白细胞减少症模型

环磷酰胺通过干扰骨髓造血细胞的 DNA 合成, 直接影响髓内幼稚细胞的分裂与增殖, 损伤外周血白细胞建立白细胞减少症模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[6] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雄性。小鼠经一次性腹腔注射环磷酰胺 150mg/kg, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 造模后第 2 天其外周 WBC 数开始明显下降, 造模后第 4 天达最低值。

(2) 脾脏重量系数及胸腺重量系数的变化^[7] 造模后脾脏重量系数及胸腺重量系数均明显低于正常对照水平。

(3) 骨髓有核细胞计数^[8] 小鼠经环磷酰胺 (CY) 造模后, 模型组小鼠第 5 天骨髓有核细胞计数和第 8 天骨髓有核细胞计数均极显著地低于正常组。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[9] LACA 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄兼用。腹腔注射环磷酰胺

100mg/(kg·d), 连续 2d, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模后第 5 天 WBC 水平显著低于正常组。

(2) 脾脏、胸腺重量系数^[10] 测定脾脏重量系数(脾脏重量系数=脾重÷体重×100)及胸腺重量系数。结果显示, 造模后脾脏重量系数、胸腺重量系数均显著低于正常对照水平。

(3) RBC 数和 Hb 含量 环磷酰胺模型组小鼠 RBC 数和 Hb 含量降低。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[11] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄兼用。小鼠每天腹腔注射环磷酰胺 70mg/kg, 连续 3d, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模次日其外周 WBC 数显著下降, 第 3 天达最低值, 第 5 天仍然明显低于造模前水平。

(2) 脾脏湿重及脾脏重量系数测量 造模后脾脏湿重及脾脏重量系数均显著低于正常对照水平。

(3) 骨髓有核细胞计数 模型组小鼠骨髓有核细胞(BMC)计数水平明显低于正常组水平。

六、环磷酰胺致大鼠白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[12] Wistar 大鼠, 体重 200~240g, 雌雄各半。对大鼠每天腹腔注射环磷酰胺 40mg/kg, 连续注射 5d, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模次日其外周 WBC 显著下降, 至第 11 天 WBC 始终保持在较低水平。

(2) 骨髓有核细胞计数 经环磷酰胺造模后, 模型组骨髓有核细胞计数明显低于正常组。

(3) 脾重量及脾脏重量系数测量 脾湿重并计算脾脏重量系数(脾脏重量系数=脾重÷体重×100)。结果显示, 模型组大鼠脾重量及脾脏重量系数均显著下降。

(4) 粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)含量测定 造模后第 11 天采用 ELISA 方法测定血清中 GM-CSF 含量。结果显示, 造模后, 大鼠 GM-CSF 明显低于正常对照水平。

七、环磷酰胺致狗白细胞减少症模型

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[13] 狗, 体重 15~20kg, 雌雄各半。狗每天喂饲环磷酰胺 6mg/kg, 每天一次, 连续 5d, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模后外周 WBC 数逐渐下降, 第 11 天达最低值, 从第 13 天开始持续升高, 第 21 天上升到正常水平。

(2) 血小板计数 造模后外周 PLT 数逐渐下降, 第 13 天达最低值, 以后缓缓升高。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[14] 狗, 体重 15~20kg, 雌雄各半。狗每天肌肉注射环磷酰胺 5mg/kg, 每天一次, 连续 5d, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】(1) 白细胞计数 造模后第 7 天达最低值, 从第 9 天开始持续升高, 第 17 天恢复到正常水平。

(2) 血小板计数 造模后第 9 天达最低值, 第 9~13 天波动不大, 此后开始持续升高, 第 19 天又有所下降。

八、环磷酰胺致兔白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[15] 日本大耳白兔, 体重 2.5~3.5kg, 雌雄兼用。于兔耳缘静脉注射

环磷酰胺 5mg/kg, 连续注射 7d。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 造模后 WBC 数显著低于正常组。

(2) 血小板计数 造模后 PLT 数显著低于正常组。

九、5-氟尿嘧啶致小鼠白细胞减少症模型

5-氟尿嘧啶通过干扰骨髓造血细胞的 DNA 合成, 直接影响髓内幼稚细胞的分裂与增殖, 损伤外周血白细胞建立白细胞减少症模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[16] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雄性。小鼠灌胃 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 25mg/kg, 每天 1 次, 连续 10d。

【观测指标与分析】 白细胞计数 模型组 WBC 数显著地低于正常对照水平。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[17] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。模型组小鼠腹腔注射 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 25mg/kg, 每天 1 次, 连续 7d。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组 WBC 数显著地低于正常对照水平。

(2) 脾脏重量系数测量 模型组小鼠脾脏重量系数明显下降。

(3) 胸腺重量系数测量 模型组小鼠胸腺重量系数明显下降。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[18] BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 雄性。小鼠一次性腹腔注射 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 150mg/kg, 建立白细胞减少症模型。

【观测指标与分析】 白细胞计数 造模后第 14 天达最低值, 从第 15 天开始持续升高, 但至第 24 天仍显著低于造模前水平。

十、¹³⁷Se-γ 射线致小鼠白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[19] ICR 小鼠, 体重 18~20g, 雄性。小鼠接受一次性¹³⁷Se 放射源照射, 剂量率为 0.87Gy/min, 总剂量为 4Gy。

【观测指标与分析】 (1) 血白细胞计数 照射后第 1 天 WBC 下降明显, 第 4 天达到最低值, 第 10 天仍保持在较低水平。模型组造模后第 1、4、7、10 天白细胞水平均显著低于正常对照水平。

(2) 骨髓有核细胞计数 模型组小鼠造模后第 10 天骨髓有核细胞数显著低于正常组。

(3) 脾脏重量系数及胸腺重量系数测量 经照射后, 小鼠脾脏指数及胸腺指数均显著下降。

十一、T-2 毒素致猫白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[20] 猫, 体重 2.0~3.0kg, 雄性。将 T-2 毒素溶于乙醇, 以 0.08mg/kg 剂量给猫作腹腔注射, 隔日 1 次, 隔日采血。当模型组 WBC 降低 30% 时, 停止给 T-2 毒素。该模型 WBC 持续下降。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 造模后 WBC 数持续下降。

(2) 血小板计数 造模后 PLT 数持续下降。

十二、X 射线致小鼠白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[21] ICR 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。小鼠经一次性 X 射线全身照射, 剂量为 1.5Gy。造模后第 5 天其外周 WBC 数开始明显下降。实验第 5 天检查。

- 【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组外周血 WBC 数显著低于正常组。
- (2) 骨髓有核细胞数计数 模型组骨髓有核细胞计数显著低于正常组。
- (3) 脾脏及胸腺重量系数测量 经照射后, 小鼠脾脏重量系数及胸腺重量系数均显著下降。

十三、X 射线致兔白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[22] 中国白兔, 体重 2kg 左右, 雌雄兼用。动物用深部 X 线治疗机 600 伦琴全身照射 (距离 30cm, 剂量率 49.34 伦琴/min, 120KV, 10mA, 过滤板 3mm)。

【观测指标与分析】 白细胞计数 照射后第 3 天 WBC 下降明显, 第 5 天达到最低值, 第 7~12 天逐渐恢复。

十四、阿糖胞苷致小鼠白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[23] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。小鼠第 1、2 天腹腔注射阿糖胞苷 100mg/(kg·d), 1dl 次; 第 3、4、5 天改用 1dl 次腹腔注射阿糖胞苷 50mg/(kg·d)。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 造模后 WBC 数显著性低于造模前水平。

(2) 血小板计数 造模后 PLT 水平显著性低于造模前水平。

十五、苯致小鼠白细胞减少症模型

苯的代谢产物对骨髓中分裂最活跃的幼稚细胞有明显的毒性作用, 抑制分裂, 影响造血功能, 而且能破坏外周血中的白细胞, 使之死亡, 从而建立白细胞减少症模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[24] KM 小鼠, 体重 18~22g, 雌雄各半。模型组小鼠每日吸入苯 1h, 连续 14d。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 模型组第 9、14 天 WBC 数均显著低于正常对照水平。

(2) 红细胞计数 模型组第 9、14 天 RBC 数均低于正常对照水平。

(3) 血红蛋白含量测定 模型组第 9、14 天 Hb 含量均明显低于正常对照水平。

(4) 血小板计数 模型组第 9、14 天 PLT 数均显著低于正常对照水平。

(5) 骨髓有核细胞计数 模型组第 9、14 天骨髓中有核细胞数均显著低于正常对照水平。

(6) 脾脏及胸腺重量系数测量 小鼠脾脏重量系数及胸腺重量系数变化不明显。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[25] KM 小鼠, 体重 30~33g, 雌雄各半。小鼠置于密闭中毒柜 (1.36m³) 内, 以静式呼吸道吸入苯 (11.2mg/L 空气, 3h/d×21d)。挑选白细胞总数下降至染毒前自身值的 60% 左右的小鼠。为了防止停用苯后可能出现白细胞数下降的自发恢复现象, 在给药期间, 各组继续以上述苯浓度隔天染毒一次, 直至实验结束。

【观测指标与分析】 白细胞计数 染毒后小鼠 WBC 水平显著地低于造模前水平。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[26] KM 小鼠, 体重 15~25g, 雌雄兼用。动物皮下注射苯 5ml/kg, 持续 10d, 选用外周白细胞降至原来的 50% 以下者作为白细胞减少症模型使用。

【观测指标与分析】 白细胞计数 第 1~4 天 WBC 持续下降, 第 4 天为最低水平, 从第 5 天又开始恢复。

十六、苯致大鼠白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[27] Wistar 大鼠, 体重 180~220g, 雌性。将苯溶于花生油, 给 3 个模型

组大鼠分别灌胃苯 400mg/kg、800mg/kg 和 1600mg/kg，给药容量为 10ml/kg，连续 23 周。

【观测指标与分析】 (1) 白细胞计数 苯剂量为 1600mg/kg、800mg/kg 和 400mg/kg 时，大鼠白细胞降至实验开始时的 50% 分别需要 3 周、6 周和 9 周。据动物给予苯后，WBC 降至 50% 为苯中毒动物模型的标准，3 个剂量均可复制出白细胞减少动物模型，但造模需要的时间相差很大。

(2) 红细胞计数 给予苯 2 周后，苯剂量为 1600mg/kg 组的大鼠 RBC 低于空白对照组和溶剂对照组，但第 14 周后逐渐升高；苯剂量为 400mg/kg 组 RBC 的下降速度慢，第 11 周后与高剂量组相似。

(3) 血小板计数 给予苯 3 周后，1600mg/kg 组 PLT 低于空白对照组和溶剂对照组，其后继续下降。400mg/kg 组于第 6 周后显著下降。

(4) 脾脏重量系数测量 苯 1600mg/kg 组及 400mg/kg 组脾脏重量系数均显著下降 (800mg/kg 组未测定脾脏重量系数)。

十七、苯致兔白细胞减少症模型

【模型制作方法】^[28] 中国白兔，体重 1.5~3.0g，雌雄各半。每天每兔皮下注射苯 1ml/kg，连续注射 3 次。

【观测指标与分析】 白细胞计数 首次皮下注射苯后第 3 天白细胞水平达最低值，第 5 天开始逐渐回升，第 13 天已超过注射前水平。

参 考 文 献

- [1] 段红华，蔡锡麟，能树华. “升血灵”对辐射损伤小鼠保护作用及外周血像的影响. 江西医学院学报，1999，39 (4): 35.
- [2] 韩金祥，王美岭，赵建等. 自制重组人粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子的药效学实验研究. 中国生化药物杂志，1997，18 (4): 170.
- [3] 聂继华，仲恒高，杨小波等. 蜂胶对辐射损伤大鼠外周血细胞及血清 SOD 的影响. 环境与职业医学，2006，23 (2): 149.
- [4] 赵乃坤，国体健，郑善校等. 苏乐康胶囊对⁶⁰Coγ线照射狗外周血象的影响. 中华放射医学与防护杂志，1989，9 (6): 389.
- [5] 郝静，罗庆良，熊国林等. rhIL-11 不同时间给药对急性放射病猕猴造血系统的影响. 中华放射医学与防护杂志，2001，21 (1): 31.
- [6] 李岩，曲绍春，刘杰等. 白鲜皮粗多糖升白细胞作用的初步研究. 长春中医学院学报，1995，11 (49): 48.
- [7] 李岩，马秀俐，曲绍春等. 西洋参根粗多糖对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响. 白求恩医科大学学报，1996，22 (2): 137.
- [8] 赵喜新，王宪岭，曹大明等. 穴贴扶正升白膏对化疗模型小鼠白细胞及骨髓的影响. 河南中医医学刊，2002，17 (2): 29.
- [9] 曹道平，杨利丽，孙思禄. 生白片的药理实验研究. 山东师大学报 (自然科学版)，2000，15 (3): 304.
- [10] 万军梅，吴巍，曹华等. 升白丸对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症的影响. 时珍国医国药，2002，13 (9): 513.
- [11] 梅志洁，李文海，邓常青. 石韦大枣合剂治疗环磷酰胺所致小鼠白细胞减少症的实验研究. 湖南中医学院学报，2002，22 (2): 32.
- [12] 傅汝林，毕莲，吴晓勇. 化疗后低白细胞及低免疫力动物模型研究. 辽宁中医杂志，2005，32 (8): 850.
- [13] 韩金祥，王美岭，赵建等. 自制重组人粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子的药效学实验研究. 中国生化药物杂志，1997，18 (4): 170.
- [14] 刘晓宏，栗永萍，王军平等. 重组人白细胞介素 3 对环磷酰胺所致狗造血损伤的治疗作用. 中国实验血液学杂志，1998，6 (4): 304.
- [15] 崔宏波，凌秋，李延平. 细菌多糖治疗白细胞减少症的实验研究. 哈尔滨医科大学学报，2002，36 (2): 123.
- [16] 王艳，王英，梁秀艳等. 猪苓多糖与 5-氟尿嘧啶伍用对小鼠抗肿瘤及免疫功能的影响. 中国中医药科技，2002，9 (6): 349.
- [17] 杨广文，张素英，张晓健. 得康口服液抗 5-Fu 致小鼠食量、体重下降及白细胞减少的实验研究. 山西中医，