

基础医学 动物实验技术

JICHU YIXUE DONGWU SHIYAN JISHU

主编 刘玉林 张 琰 胡玉珍



第四军医大学出版社

基础医学动物实验技术

主 编	刘玉林	张 琰	胡玉珍
副主编	张 峰	刘琳娜	王志鹏
	杨志福	刘水冰	崔成锐
编 者	王志鹏	王 芳	文爱东
	王彦刚	田 菲	刘一雄
	刘子冬	刘玉林	刘琳娜
	刘 莉	刘振国	刘景红
	刘水冰	孙志峰	阎 露
	吴玉梅	李 晨	张 峰
	张 琰	沈海燕	肖 毅
	杨志福	杨铁虹	罗 敏
	周 敏	崔成锐	贾 敏
	胡玉珍		

第四军医大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

基础医学动物实验技术/刘玉林,张琰,胡玉珍主编. —西安:第四军医大学出版社, 2008.9

ISBN 978 - 7 - 81086 - 430 - 5

I. 基… II. ①刘… ②张… ③胡… III. 医学 - 实验动物 IV. R - 332

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 135690 号

基础医学动物实验技术

主 编 刘玉林 张 琰 胡玉珍

责任编辑 土丽艳

出版发行 第四军医大学出版社

地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)

电 话 029 - 84776765

传 真 029 - 84776764

网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>

印 刷 西安永惠印务有限公司

版 次 2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月第 1 次印刷

开 本 889 × 1194 1/16

印 张 23

字 数 720 千字

书 号 ISBN 978 - 7 - 81086 - 430 - 5/R · 413

定 价 52.00 元

(版权所有 盗版必究)

序

不夸张地说，生命科学特别是医学和动物医学的研究与进步，在许多方面都离不开实验动物。从生理学、药理学、毒理学到航天医学，实验动物的功劳无处不在。为表彰犬对人类医学实验研究所作出的贡献和牺牲，在圣彼得堡实验医学研究所的大院里，至今还立有“无名犬纪念碑”。

真未敢想象，如果没有实验动物，生物学研究将会是怎样！所幸的是实验动物学在各国政府和科技工作者高度重视和不懈努力下，已经攻克了一个又一个难关，取得了一个又一个成果；培育出一系列具有实用价值的标准实验动物和模型动物；建立了规范的动物实验技术和完善的实验动物管理办法。为将这些实验动物学的研究成果以文字的形式提供给该领域的同行，第四军医大学的刘玉林、张琰和胡玉珍等专家教授，以他们的高度使命感与事业心，结合他们多年的实验动物学教学科研成果与知识积累，利用教学与科研之余，编撰了这本近百万字的《基础医学动物实验技术》专著。

该书内容齐全，既有常用实验动物生理学、解剖学知识，常用实验方法和参考数据，又有药理学、毒理学与免疫学等专门动物实验方法，同时还收录了模型动物和转基因动物研究成果和资料。全书编排科学，图文并茂，对于从事生命科学、医学与动物医学教学科研人员 and 该领域的在读博士、硕士研究生均具有阅读和参考价值，特此推荐。同时也希望从事实验动物学研究的同行，今后能结合自己在该领域的教学、科研工作及其成果、体会，编写出版更多更好这方面优秀专著，以迎接我国实验动物学的春天。

中国工程院院士
军事医学科学院研究员

夏咸柱

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 常用实验动物的生物学特性及解剖	(7)
第一节 常用实验动物	(7)
第二节 小鼠和大鼠	(9)
第三节 豚鼠	(21)
第四节 兔	(27)
第五节 猫及犬	(42)
第六节 猪、马、牛、羊	(62)
第七节 鸽、鸡、鸭	(81)
第八节 青蛙与蟾蜍	(89)
第九节 猴	(99)
第三章 动物实验的常用方法	(106)
第一节 实验动物编号方法	(106)
第二节 实验动物分组方法	(107)
第三节 实验动物的给药方法和途径	(108)
第四节 实验动物的麻醉	(112)
第五节 实验动物样品收集	(116)
第六节 实验动物的致死方法	(125)
第七节 常用动物实验的手术方法	(125)
第八节 实验动物在饲养过程中的疾病防治	(145)
第四章 实验动物的正常参考数据	(147)
第一节 各种不同浓度溶液的配制方法	(147)
第二节 动物实验常用的液体成分与配制	(148)
第三节 动物实验常用的生理学参数	(148)
第四节 常用动物实验中的各种生化数据	(150)
第五节 常用实验动物的分子生物学数据	(151)
第六节 常用酸碱溶液的配制	(152)

第七节	常用消毒药品的配制与用途	(153)
第八节	常用血液抗凝剂的配制及用法	(155)
第五章	生理学常用动物实验技术	(156)
第一节	神经-肌肉电生理实验	(156)
第二节	血液系统生理实验	(161)
第三节	循环系统生理实验	(163)
第六章	药效学动物实验技术	(171)
第一节	药效学研究的内容、目的和方法	(171)
第二节	心脑血管疾病的中药药效学研究	(174)
第三节	呼吸系统疾病的中药药效学研究	(177)
第四节	消化系统疾病的中药药效学研究	(182)
第五节	妇科疾病的中药药效学研究	(187)
第六节	泌尿系统疾病的中药药效学研究	(189)
第七节	骨及脊椎病的中药药效学研究	(192)
第八节	传染病的中药药效学研究	(195)
第九节	其他常见疾病的中药药效学研究	(197)
第七章	免疫学动物实验技术	(203)
第一节	制备单克隆抗体的动物和细胞系	(203)
第二节	单克隆抗体制备技术	(205)
第三节	细胞培养技术	(215)
第四节	免疫性疾病的动物模型	(228)
第八章	微生物学动物实验技术	(240)
第一节	实验室危险和感染	(240)
第二节	病毒敏感动物的选择	(243)
第三节	病毒学的动物实验技术	(249)
第四节	细菌学的动物实验方法	(256)
第九章	转基因动物实验技术	(263)
第一节	概述	(263)
第二节	转基因动物的构建	(263)
第三节	转基因的方法	(265)
第四节	转基因动物的培育	(269)
第五节	转基因动物的检测	(271)
第六节	转基因动物的育种及建系	(274)

第七节 其他转基因动物	(275)
第八节 转基因动物的应用	(276)
第十章 毒理学动物实验技术	(278)
第一节 全身毒性实验	(278)
第二节 蓄积毒性试验	(284)
第三节 特殊毒性实验	(285)
第四节 药物依赖性实验	(293)
第五节 制剂安全性动物实验	(294)
第十一章 人类疾病动物模型的复制方法	(298)
第一节 动物模型的分类	(298)
第二节 心血管系统疾病的动物模型	(299)
第三节 呼吸系统疾病的动物模型	(306)
第四节 消化系统疾病的动物模型	(308)
第五节 免疫性疾病的动物模型	(310)
第六节 神经系统疾病的动物模型	(312)
第七节 放射损伤及烧伤、冻伤疾病的动物模型	(313)
第八节 肿瘤病的动物模型	(314)
第十二章 医学动物实验中统计学方法的应用	(318)
第一节 医学动物实验中统计学的基本要求	(318)
第二节 统计资料的设计	(320)
第三节 统计资料的设计方法	(323)
第四节 动物实验的常用统计方法	(324)
第五节 药品最大耐受量、半数致死量的优化统计方法	(338)
第十三章 组织器官的离体实验研究方法	(340)
第一节 心血管系统	(340)
第二节 呼吸系统	(346)
第三节 消化系统	(348)
第四节 神经系统	(352)
第五节 骨骼肌肉组织	(353)
第六节 内分泌系统	(355)
第七节 泌尿生殖系统	(356)
第八节 皮肤及五官	(358)
参考文献	(360)

第一章 绪论

一、概述

(一) 动物实验研究的范围及作用

动物实验技术 (animal laboratory technology) 是以实验动物为对象, 研究生物医学、行为医学及教学科研的一门重要技术, 是探讨人类起源、生命奥秘、疾病机制及治疗等的重要技术手段之一, 它包括的内容也极其丰富, 在生物学、医学、药学、兽医学、机械工程学、环境卫生学、建筑学、农业科学、物理学、航天医学等都发挥了重要的作用。

1. 生命科学方面 在生命科学中, 人类的健康研究依赖于动物实验。在对人的各种生理现象和病理机制及疾病的预防研究中, 实验动物是人类的替代者。有人统计, 生命科学研究中有一半以上需要用实验动物来完成。

2. 制药业和化学工业方面 这方面对实验动物的依赖更为明显。药物和化工产品的副作用, 对生命的影响程度等都是在动物实验中获得结论的, 制药和化学工业产品如不通过实验动物进行安全实验, 直接给人类应用将会造成十分严重的后果。

制药、化工等工业的劳动卫生措施, 特别是各种职业性中毒 (如铅、苯、汞、锰、矽、酸、一氧化碳、有机化合物等) 的防治方法, 都必须选用实验动物进行各种实验后才能确定。

医药工业上生产疫苗、诊断血清、某些诊断性抗原、治疗性免疫血清等的重要材料, 都是将细菌或病毒等接种于动物体内而制成。例如从牛体制备牛痘疫苗, 猴肾制备小儿麻痹症疫苗, 马体制备白喉、破伤风或气性坏疽等血清, 小鼠脑内接种脑炎病毒后的脑组织制备血清学检验用的抗原等。

3. 畜牧兽医科学方面 疫苗的制备和鉴定、生理实验、胚胎学研究、奶制品营养成分的分析、保护健康禽畜群体以及淘汰污染禽畜等工作, 都要使用实验动物。在畜禽传染病的研究工作中, 常急需要有合格的实验动物进行实验。在兽医科学研究上, 曾发生过不科学的事件。如 1981 年, 我国某兽医生物制品厂生产的猪瘟疫苗混有猪瘟强毒, 结果注射后引起大批猪死亡, 给国家造成巨大的经济损失, 其原因是由于制苗所用的仔猪带毒, 而安全检验用的动物数量和质量又不符合要求所引起的。又如在生产鸡新城疫苗过程中, 由于使用的鸡卵不是 SPF 鸡卵, 使疫苗的质量得不到保证。

4. 农业生产方面 新的优良品种的确立, 除要做物理的、化学的分析以外, 利用动物实验进行生物学的鉴定是十分重要和有意义的。化学肥料、农药的残毒检测, 粮食等经济作物品质的优劣等, 最后也还是要通过动物实验来确定。

化肥和农药是提高农业生产的重要材料, 由于未经严格的动物实验而发生的问题很多。在合成的多种新农药物化合物中, 真正能通过动物实验对人体和动物没有危害的仅占 1/30 000, 其余都因发现对人的健康有危害而禁用。例如早在 20 世纪 40 年代, 美国应用一种杀虫剂, 但应用一段时间以后发现它是一种强致癌剂而停用, 但已经造成了对环境的污染。而 20 世纪 50 年代研究出的一种杀螨剂, 广泛用于棉花、果树、蔬菜等经济作物上, 用了七年后才发现能引起大鼠和家犬的肝癌, 不得不停用, 但已造成了环境的污染。我国过去大量使用有机农药, 后来也发现它们有致癌作用。20 世纪 70 年代, 我国从瑞士的汽巴-嘉基公司进口杀虫药的生产流水线, 花了大量投资建立了生产基地和 20 个标准车间, 但就是因为忽略了动物的安全性实验而造成了很大损失, 投产后, 才得知这种杀虫药能致癌, 国外已经停用。我国也只好停止生产, 但已造成很

大经济损失。由此可见,用实验动物进行的安全性实验对农药、化肥等生产极为重要。

5. 轻工业生产方面 人们的吃、穿、用,包括食品、食品添加剂、皮毛及化学纤维、生物日用品,特别是化学制品有害成分的影响,都要用实验动物去试验。

食品、食品添加剂、皮毛制品、化妆品等上市销售,都要求必须先经国家指定的机构采用动物实验进行安全性评价,以证明其对人体无急慢性毒性,且无致癌、致畸、致突变等作用,才能供应市场。

6. 重工业和环境保护方面 在重工业上,对有害物的鉴定和防治,以及国土的环境保护,包括废物的、气体的、光辐射的、声干扰的等各方面的作业,动物实验都是监测的前哨和研究防治措施的手段。

7. 国防和军事科学方面 各种武器杀伤效果,化学、辐射、细菌、激光等武器的最大杀伤效应和防护,在宇宙、航天科学实验中,实验动物都做为人类的替身而取得有价值的科学数据。

人们都知道,在宇宙飞船首次遨游太空时,代替人类受试做生理试验的是实验动物。通过动物试验,研究人体在太空条件下的失重、辐射和天空环境因素对机体生理状态的影响。在核弹爆炸的试验中,实验动物被预先放置在爆炸现场(不同距离),以观察光辐射、冲击波和电离辐射对生物机体的损伤。此外,在战伤外科的研究中,在防治军事毒剂和细菌武器损伤的研究中,实验动物均被用来代替人类作为战争中的受难者研究对各种战伤的有效防治措施。因此,实验动物在军事医学研究上具有特殊的应用价值。

8. 商品鉴定和国际贸易方面 现在已把实验动物的实验鉴定列为法规,它直接影响对外贸易的数量、质量和信誉。如:我国出口到国外的海鱼类,由于被检出体内含有大量抗生素而被拒之门外。

9. 行为科学的研究方面 动物实验在行为科学的研究中也占有重要地位。例如,汽车设计中的撞击,土建设计中震动的允许程度,灾难性事故的处理等,国外也已经采用实验动物模拟人类。

10. 实验动物科学自身研究方面 在实验动物科学本身研究中,由于其综合性很强,涉及数学、物理学、化学、生物学、动物学、胚胎学、营养学、微生物学、遗传学、解剖组织学、寄生虫学、传染病学、免疫学、血液学、麻醉学、生态学等,虽然它的直接研究目的,是取得适用于各种特性需要的实验动物,但它对生物科学的微观领域,都进行了更为深入的探索,例如,在遗传学、生殖生理学等的科学以及实用技术方面,都不断取得突破。

加强对实验动物科学技术的研究,还可以为野生动物资源开辟新的利用途径。我国野生动物资源极为丰富,单就灵长目(猴类)而言,我国就有 18 种之多,日本只有 1 种,英国和美国都没有野生猴类。鸟类种数就更多,有 1 000 余种。这些野生动物不仅可以满足我国科研、教学与生产的需要,还可大量出口换取外汇与进行动物交换,将为我国全面建设小康社会与科学发展作出巨大贡献。

我国是一个多人口的国家,对实验动物的需用量特别大。随着科学技术与工农业的发展,对实验动物质量的要求愈来愈高。因此,加强对实验动物的科学研究,生产更多的、质量更好的实验动物,可加速对医学、公共卫生学、兽医学等生物科学重大理论的研究及生命现象的探讨,促进科学技术的现代化,加速消灭人畜共患病与各种常见病的危害,增进人民健康,同时还可保证生物药品制造与畜牧业的安全生产,促进国民经济的发展。所以,这不仅有巨大的科学意义,而且有重要的现实意义与深远的战略意义。

(二)动物实验的意义

人类很早就开始用动物进行试验。1628 年,哈维发表了血液循环说,即用动物心脏开展研究。20 世纪动物实验技术得到了较为完善的发展,如:1921 年在犬的实验中发现了胰岛素,1967 年成功地进行了犬的心脏移植术。

1. 动物实验促进了医学的发展 人类最早通过自身尝试天然动植物来治病和防病,在此过程中,人类为医学的发展付出了巨大的代价,有的中毒致残甚至死亡。我国早期医学先驱李时珍所著《本草纲目》就是佐证。他是通过尝试使用天然动植物药物而积累了大量的经验,为医学的发展做出了杰出的贡献。17 世纪初威廉·哈维和斯蒂芬·哈尔用青蛙、蛇来试验研究,证明了循环系统是一个密闭的系统,从而把动物实验技术提高到了—门新兴学科的水平,为生理学创建了诸多实验方法。

20世纪50年代发展的临床医学,也是先由动物实验作奠基,逐步发展到人身上,再通过临床试验进一步发展推进。可见,动物实验在人类医学发展过程中起到了承前启后的推动作用。

2. 动物实验促进了医学研究、医学发展 医学上的重大发现和发明绝大多数与动物实验有密切的关系,基础医学到临床医学每一学科的突破都是通过动物实验来完成的。例如:传染病原的发现、器官移植、预防接种、抗生素的使用、人工循环、免疫现象、放射线、化学治疗等等。

(1) 通过动物实验,培养了菌苗及抗病毒血清,在防治流行性传染病方面起到重大作用。如:伤寒、白喉及破伤风疾病的预防,白喉、肺炎和脑膜炎抗病毒血清的研制。

(2) 发现了抗原抗体反应,推动了变态反应性疾病的研究。遗传性血管神经性水肿是一种罕见的致命疾病,对它的本质了解是以补体的研究为根据,补体是增强免疫性的一些蛋白质的奇妙复合体,因其存在于豚鼠血清里而终为人们所发现。

(3) 创立了实验肿瘤学,发现了化学致癌物质和致癌病毒,推动了肿瘤学的研究。这标志着人类与肿瘤的斗争进入了一个新阶段,从此,人体肿瘤的错综复杂的现象,可以在被控制的条件下进行探讨。近年来世界各国对诱发性、移植性动物肿瘤的建立有了新的发展,在肿瘤的生长特性、宿主反应、病因与发病机制、诱发机制、机体免疫以及抗癌药物的筛选等重要的领域中,作出了许多成绩。动物身上移植人类肿瘤的成功,为肿瘤的研究创造了条件,给肿瘤治疗提供了一个全新的途径。

(4) 发现了一些多发病的基本性质,对根除和控制这些疾病起着巨大作用。如:脚气病、糙皮病和坏血病是营养缺乏的后果等。

(5) 创立了“应激学说”,对临床上使用激素疗法起了重要的指导作用。如注射亚致死量的肾上腺素、吗啡、阿托品,肌肉运动,脊髓横断,过冷、过热,这些都可引起一系列与刺激物的药理性质及其他特性关系不大的症候群,称之为“全身适应症候群”,并证明垂体肾上腺皮质的变化在全身适应症候群中起主要作用,其意义在于提高机体对有害刺激的抵抗力。

(6) 使临床医学的许多重大技术得到创新。医生在研究新的手术或麻醉方法时,往往先是通过动物实验,取得实验数据和熟练而精确的技巧,然后才妥善应用于临床。如低温麻醉、体外循环、断肢再植、器官或组织移植术等成就,都与动物实验紧密相关。特别是上世纪中叶,外科进入了低温、深低温麻醉时代,建立了人工心脏体外循环,这些技术完全是在动物实验的基础上发展起来的。

(7) 可以把很多人体上非常复杂的问题简单化,可进行各种因素的细微探讨,而这是临床研究难以做到的。

①在动物,无论是进行整体、离体器官或试管实验,这都比较容易做到。

②实验对象的选择受限小,动物实验完全可以选择相同的动物,在动物的品种、品系、性别、年龄、体重、身长、活动性、健康状态,甚至遗传和微生物等方面也可严加限制。

③动物可以同时选取所需要的数量,同时进行实验取得结果,而病人则是陆续发生,陆续进行试验,逐渐积累实验结果的资料,前后可能掺入不少人为的干扰因素有时难以区分。这样,我们就把一个非常复杂的多元方程,转变成简单的函数运算,使许多医学上的实践问题和重大理论问题解决得比较容易,从而推动了医学科学的发展。

(8) 使临床上很多因潜伏期或病程长的疾病致研究周期长的难题得到解决。采用动物,复制动物疾病模型可以大大缩短其潜伏期或病程。尤其是那些在人体上不便进行或不可能进行的研究,可以在实验动物身上或动物离体器官上进行。

应用动物模型研究发病率较低的疾病和那些因其危险性而对人类进行实验是不道德的疾病。例如:急性白血病的发病率较低,研究人员可以有意识地提高其在动物种群中的发生频率或射线照射使白细胞减少而进行研究。

(9) 临床上平时不易遇到的疾病,应用动物实验可以随时进行研究,使得人们对这些疾病有了深入的认识,如:毒气中毒、烈性传染病、重金属或微量元素缺乏等。

(10) 医学上有些重要领域的确立最终是依赖于动物实验而完成,而在临床上根本是做不到的。如:关于神经与内分泌的关系早就引起了人们的注意,在 20 世纪 30 年代临床就观察到下丘脑损伤可引起生殖、代谢的紊乱,尸体解剖与动物实验都强烈提示,下丘脑可能通过分泌某些激素调节垂体前叶的功能,从而控制许多内分泌器官的功能。如果这一现象能得到肯定,神经体液调节的概念将得到确定性的支持,但花费了 40 多年的时间,人们却无法找到下丘脑调节垂体的物质。直到 20 世纪 70 年代,两组科学家分别用十多万只羊和猪的下丘脑提取出几毫克下丘脑的释放激素,而仅需注射几微克这类激素就可导致垂体分泌大量激素,这才最终确定了下丘脑对垂体激素调节的新概念。由于这一研究为神经内分泌调节领域提供了有利的证据,并改变了许多内分泌疾病诊断与治疗的方法,从而获得了诺贝尔奖。如果不用动物下丘脑而企图由几个人的下丘脑提取释放激素则是非常困难甚至是不可能的。可见医学研究发展到目前,一些工作非在动物身上进行实验才能完成。

二、相关研究领域实验动物的选择

(一)动物的选择原则

动物的特性是在长期进化过程中适应生活环境而表现出来的。不同种(系)实验动物和人类在解剖、生理等方面特性存在很大差异。所以,动物实验前应充分了解实验动物和人类的特性,如骨骼的解剖和构造、脏器形态大小、血清的生化性状以及临床观察指标等等的异同点。

由于选择什么动物,直接影响到实验结果。那么,如何选择实验动物呢?

1. 应选择与人类的组织器官功能、结构以及疾病特点特性相近似的实验动物。
2. 要选择与实验目的相适应的实验动物(遗传特性明确、微生物携带明确)。
3. 要求相适应的实验动物规格(年龄、体重、性别等)。
4. 要选择来源广泛,价格便宜,有足够数量来源的动物品种。

(二)相关研究领域实验动物的选择

表 1-1-1 常用实验动物的应用实例

实验动物	研究领域	应用实例	备注
小 鼠	病毒学	急毒、异常毒性	药品毒性评价
	免疫学	免疫制剂研发	抗体血清制备及机制
	肿瘤学	抗癌药筛选	裸小鼠药效、病理机制评价
	放射医学	放射性疾病	病理模型及疗效研究
	药效筛选	新药临床前药效	大群体样本
	微生物、寄生虫学	传染源、流感、寄生虫	机制及防治研究
	传染病学	传染病	各种传染性疾病
	遗传学	遗传病	动物替代模型
	呼吸系统疾病	镇咳药研究	首选动物
	避孕药和营养学	胚胎及营养	小鼠繁殖力强
	神经-内分泌研究	肾上腺、垂体功能实验	激素调节
	大 鼠	肝脏外科研究	肝衰研究
肿瘤疾病研究		肝脏肿瘤	替代动物之模型
神经-内分泌学		肾上腺、垂体、卵巢实验	应激反应灵敏
遗传学		动物基因型研究	毛色基因型多
放射科学		放射病研究	复制各种放射病模型
耳科学		中耳炎研究	自发性中耳炎发病模型
传染病学		多种传染性疾病	病理、机制
药效学与毒理学		亚急毒、慢毒、药物疗效观察	常使用
行为科学		高级神经活动	行为变化典型

续表

实验动物	研究领域	应用范围	备注
豚鼠	变态反应 呼吸内科 毒理学(变态反应) 药理学 营养学	血清制备及诊断血清制备 抗缺氧及氧耗量 局部皮肤刺激实验、过敏实验 平喘和抗组织胺实验研究 维生素 C 研究	首选 豚鼠对某些药物极敏感 豚鼠对某些细菌和病毒极敏感 首选(肠道不能合成维生素 C)
兔	免疫学 发热学 神经内科学 生殖学 眼科学 毒理学 心脏内科学 微生物学 遗传学	各种抗血清和诊断血清制备 热原、发热、解热研究 高血脂、动脉粥样硬化 生殖及避孕研究 眼科手术实验研究 局部及眼刺激实验 心血管和肺心病 各种微生物研究 遗传疾病和生理代谢研究	首选 发热反应极为敏感和快速 食物饲养易造成类人类模型
犬	生理学 实验外科学 毒理学	消化系统条件反射 各种外科手术研究 慢性毒性实验	
地鼠	染色体畸变、组织移植、牙科、心血管、循环、内分泌、生殖、细菌、病毒、寄生虫	性染色体畸变,移植排斥,牙体、牙周病,内分泌失调,病毒感染,细菌感染	
猴	慢性毒性实验、人类疾病模型、避孕药研究、生理研究	I类、II类生物制剂、合成药物、I类中药的急毒与慢毒,口腔病模型,循环、呼吸、内分泌及生殖生理	因资源缺乏,尽量不采用
猫	神经系统功能、循环功能、呼吸功能	药物对呼吸、心血管系统的急毒感应观察	镇咳药的研究首选
猪	皮肤烧伤、免疫、心脏病、胃肠病、肿瘤	免疫制剂提取、过敏反应疾病、糖尿病、遗传病、营养疾病等	皮肤及心血管系统与人类相似
羊、马、牛	兽医外科、免疫制剂、传染病、代谢病	战伤外科、免疫制剂及抗血清系统 免疫疾病	抗血清及免疫疫苗首选
驴	免疫学	动物疫苗制作、人类疾病疫苗、抗血清提取	犬病疫苗制作
鸡	血管疾病、免疫学研究,传染病研究	免疫血清制备、动脉粥样硬化研究、白血病、关节与骨疾病	凝血实验首选
蟾蜍	生理学、药理学、神经系统	药物对离体心脏的影响、神经系统反射研究、妊娠诊断实验	心脏和神经反射研究首选

三、动物实验的国外发展状况

实验动物在科学技术领域的广泛应用,对国民经济发展发挥了重要作用,已经受到高度重视并被世界卫生组织(WHO)所认可,并协同国际上其他组织一起向世界各国提供实验动物科学的培训、技术资料及咨询服务等。例如美、英、德、法及日本等都已建立了全国性的、现代化的实验动物中心,研究中心及辅助用品规范化的生产公司。这些国家均实现了实验动物生产社会化、标准化、商品化,有完整的组织机构与完善的教育、科研、生产管理与应用体系,有力地推动着工农业的生产、医疗保健事业与科学技术的发展。

美国生物科学课题投资的一半涉及实验动物,美国卫生署每年的经费近数十亿美元,用于培养人才和资助科研课题。在这两项工作中,有50%以上的任务要利用实验动物进行实验研究才得以完成。美国卫生

署的肿瘤研究中心,每年需要利用实验动物进行研究的课题占总经费的60%~70%以上,生产实验用动物的专用公司就有几十家,已拥有实验小鼠品系几百个,小型实验猪几十种,豚鼠品系30余个,地鼠品系30余个,大鼠品系近百个,兔子20多个品种,猴子50余种以及犬、猫、禽等。美国每年用各种品系的小鼠约8000多万只;大鼠7000多万只;豚鼠70多万只,家兔70多万只,非人灵长类4万多只。按全美国有关科学家的人数来计算,每人每年的平均使用量不少于1000只。美国现有高级实验动物专家近千人,中级实验动物科学专家十几万人。他们不但生产一般实验动物而且大量生产特种动物,如SPF、GF、GN等年产几百万头(只),不仅满足了各种科研的要求,而且还满足了年产近万种化学药物鉴定的需要。从而,先后在心血管、内分泌、器官移植、肿瘤、老年病、免疫学等研究方面取得了一系列先进成果。

实验动物科学在日本也得到了大力发展,已发展到实验动物科学工业的现代化时期。目前日本在实验动物的设施和技术在国际上是占优势的。近交系动物、无菌动物、悉生动物、无特定病原体动物、转基因动物等均已社会化、商品化。

在经济发达国家,不仅有一系列的实验动物科学组织机构,而且在实验动物的研究、生产、应用、发展及有关建筑、笼具、饲料、垫料、各种仪器等设施和设备,直到人员培训、学位评审、考核晋升等方面的工作都有明确的分工和规定。同时,还有由专家制定、国会批准颁布的有关实验动物工作法规。

美国实验动物管理法规规定:不得虐待动物,实验动物的生长发育所需的各种条件必须保证,并对实验动物疾病的处理、周围环境、工作人员的素质等都做了明确规定。达不到要求者,不准饲养动物,所做的实验不被承认。因此,在法规颁布后,几乎全部实验动物生产公司、研究单位、制药厂、大学的有关实验室都进行了改造、翻修,由农业部每两个月检查一次法规执行情况,对不符合要求的单位,有权做出制裁。

现在,利用基因调控原理进行嵌合体和单亲纯合双倍体动物的研究获得成功。嵌合体动物也称异型动物或四亲动物。这种动物可用于细胞谱系、实验胚胎学、发育遗传学以及免疫学等研究领域。单亲纯合双倍体动物育成技术又称为雌核发育技术,这种新技术的实验成功,可大大加快新品种的培育,使需要100年才能育成的实验动物,只用1年的时间就可完成,并可在纯合过程中,解决致死基因造成的胚胎期死亡问题,这标志着实验动物科学已发展到新的时代。

在病理模型动物的培育方面,现已培育成功许多种遗传突变型的免疫缺陷动物。日本专门成立了“难病”疾病模型研究组织。美国宾州大学兽医学院,已筛选出加拿大纽芬兰犬,能够发生与人类先天性心脏病几乎一样的心脏病,并采用病理组织学、细胞遗传学与分子生物学方法进行基因定位研究。为了清楚地知道基因突变的奥妙,他们成功探索了直接测定DNA的技术。同时,这个大学的代谢研究室还采用生物化学方法筛选出具有先天性碳水化合物失调的猫,以及氨基酸代谢功能失调的家犬。它们与许多儿童的代谢性疾病相似。美国卫生署为此拨给他们专款作为研究经费。除此以外,已为老年多发病培育出有多特性、多效性的动物模型:既无胸腺又无脾脏的动物模型,既有高血压和糖尿病又有肥胖症的动物模型,无B细胞功能的动物模型,无K细胞功能的动物模型,无巨噬细胞功能的动物模型等。

(刘玉林 刘水冰 张琰)

第二章 常用实验动物的生物学特性及解剖

第一节 常用实验动物

(一) 近交系动物

所谓近交系动物是指采用兄妹或亲子交配连续繁殖 20 代以上而培育出的新品种。此时其近交系数可达 99.8% 以上。目前培育的近交系动物甚多,常用的小鼠有 BALB/c、C3H 系、DBA/1 系和 DBA/2 系、C57BL/6 系、C15 系、CBA 系、NZB 系、大鼠 F344 系、GH 系、WF 系、BUF 系等百多种。

重组近交系培育的成功是近交系的一大进展。所谓重组近交系是指两个近交品系之间(互不相关)交配,产生的第二代后再进行兄妹或亲子交配,连续繁殖 20 代以上所育成的近交系列动物。它的优点是继承了双亲品系的特征又有品系内动物的固有特征,因此应用广泛。

近交同类系是指将一个品系动物的基因导入到另一个近交品系中,经过多次反复回交而培育的品系。异单基因近交系是指某一近交品系动物内,由于发生了单个基因突变进而培育的近交品系。大动物由于繁殖周期长,繁殖力低,很难获得成功,故培育的近交品系比较少,但也培育了一些近交系,如犬、兔、猫、猪等。

近交系动物有如下特征:①同基因型;②遗传稳定;③个体代表性;④基因高度纯合;⑤种类多;⑥遗传背景明确;⑦动物间相互分辨性强。

近交系动物虽然能给科技工作者提供良好的实验选择材料,并可获得准确、可靠、有规律性和重复性好的实验,但由于所用动物是近交,故有其缺点,常出现近交衰退现象。近交衰退现象是指近交系动物常会出现的生长、生育、繁殖、存活、抗病力、适应环境性等能力下降的现象。同时,在繁育过程中有害基因(隐性基因)的暴露、多基因平衡的破坏均是近交衰退的结果,因此,在实验过程中的饲养应加以特别注意。

(二) 突变系动物

突变系动物是指动物的某一基因发生了突变而发生的特定病理表现并遗传下去。突变分为自发突变和诱发突变。基因突变(变异)使动物丧失了某些原有的功能,产生了某些疾病,这又给我们提供了实验研究所用的疾病病理模型。常用突变系动物如表 2-1-1 所示:

表 2-1-1 常用突变系动物

疾病模型	特 点
糖尿病鼠	当鼠 3~4w 龄时,血糖最高可升至 6.8mg/ml,雌性无生殖力,存活不超过 32w
肥胖鼠	小鼠体重可达 60g 以上,无生育力,肾小球脂肪玻璃样病变
肌萎缩小鼠	出生 2w 即有进行性肌无力和广泛肌萎缩
侏儒症小鼠	缺生长素和促甲状腺激素,无生育力
白内障鼠	10~14d 龄出现眼晶状体混浊
无脾鼠	无脾
视网膜退化鼠	与人类色素性视网膜炎相似,呈现进行性视网膜硬化,有色素沉着及视网膜血管闭锁萎缩
高血压大鼠	生育力强,成年鼠血压可达到 200mmHg
少趾鼠	雄鼠精子缺乏
针尾鼠	椎间盘快速退化
裸鼠	无 T 淋巴细胞、无胸腺、无毛、繁殖力低下

(三) 封闭群和杂交群动物

封闭群动物是指 5 年内不从外部引进新种,在固定场所的一定群体中繁殖的种群。该动物繁殖力强,抗病力强,基因杂合,避免了诸多的近交衰退现象,如昆明种小鼠、ddH 小鼠、LACA 小鼠、Wistar 大鼠、青紫兰兔、新西兰白兔、日本大耳白兔、豚鼠等。

杂交群动物是指两个近交品系之间有计划地交配所获得地子一代动物,简称 F1 动物。特点:①生命力强、抗病力强;②继承双亲的特点;③实验重复性好;④遗传均质性;⑤种类多。被广泛地应用于单克隆抗体、细胞动力学、移植免疫及干细胞等研究。

(四) 转基因动物

转基因动物是指基因组中稳定地整合由实验的方法所导入的外源基因或特定 DNA 片段的动物。外源基因称转基因。详见转基因动物章节。

(五) 携病原体类动物

我们所称的携带病原体动物是指动物体内携带的病原微生物,出于实验的需要将其不同程度地净化而得到的实验动物。净化方式主要为生产繁殖手段、饲养设施环境、清洁饮食,以这样的微生物学控制方法而形成的一类动物。其包括以下 4 种:

1. 普通动物(conventional, CN) 指体内带有多种微生物和病毒,但无人畜共患病病原体。如大小鼠脱脚病、传染性肝炎、出血热病原体,淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒及猫、狗的狂犬病毒病原体,犬温热病毒病原体, B 病毒,体外寄生虫等。

2. 无特定病原体动物(specific pathogen free, SPF) 指机体内无确定的微生物和寄生虫存在的动物,非特定的微生物和寄生虫可存在,实际上是无传染病病原体的特定的健康动物。这类动物是使用最广泛的实验动物,通常将不影响实验要求或不带常见的病原体动物称 SPF 动物。我国 SPF 动物的饲养设备、环境均已具备,但在生产-繁殖-运输-实验的几个环节上还有脱节的问题,可能影响实验的结果。因此制定和调整 SPF 动物质控标准和增加必要设施非常重要。目前已有较详细法规,国内生产 SPF 动物已形成较系统规模,可满足科研需要。

SPF 动物已被广泛应用。它在放射医学、烧伤的恢复抗感染研究等方面有明显价值,在很大程度上已基本取代了普通动物。

3. 悉生动物(gnotobiotics, GN) 指具有已知微生物携带背景的动物,它是使特定的微生物定居于无菌动物的动物,确切地说是一种动物与已知微生物的整合。悉生动物在微生物研究领域得到了广泛的应用,在肿瘤学、药理学、生物化学、生理学、营养学、病理学、实验外科学等领域也有一定的应用。除此之外,悉生动物也弥补了无菌动物的某些缺点,如抗病力强、适于做某些特定实验、实验结果讨论价值高等。

4. 无菌动物(Germ Free, GF) 指体内不带有现代技术或手段能够检出的任何活的微生物和寄生虫的动物。它是在无菌屏障系统中经剖宫产取出胎儿,饲养于无菌环境中,其饲料、饮水经特定的消毒,使其体内无任何微生物和寄生虫(一过性体内暂时无菌状态不属无菌动物)的动物。

(六) 家畜及家禽

目前,有些家畜及家禽已为实验所用,如利用猪、羊、马、牛提供免疫制剂,利用狗做外科实验及心血管疾病模型,利用家鸡、鸭研究血细胞及血小板凝固实验等。这些动物在医学实验中起到了比实验动物更为有价值的作用。

(七) 野生动物

是指从自然界中捕获的、未经人类专门驯化的动物。这一类动物资料极为丰富,但应用到医学实验则比较少。因此,潜力巨大,值得开发。像黑线仓鼠、鼠兔、树鼠、长爪沙鼠、恒河猴、各种野鼠、虫、鸟、穿山甲等,这些野生动物有时可产生特定的实验观察效果。如树鼯,在动脉硬化及动脉粥样硬化的机制研究方面能表现出显著的特征病理观察表现,中国地鼠可制成真性糖尿病的良好模型等。开发好野生动物,可以弥补医学实验动物种类少的不足。

随着生命科学的发展,野生动物可引入到各个领域。因为生命科学对实验方法与实验材料的要求越来越广泛、细致、严格和多样化,作为生命科学的实验材料的实验动物也随之发生了很大的变化,即从用所谓的一般动物做研究到发展利用特殊动物;从用已驯化的动物发展到用野生动物,如表 2-1-2 所示。

表 2-1-2 常用野生动物的应用

野生动物	重点应用领域	备 注
地 鼠	肿瘤移植、筛选、诱发模型、治疗的研究 糖尿病研究 遗传学研究 疫苗研制及生产 染色体畸变 心血管研究 牙科学研究 放射治疗学研究 营养学(VA、VB ₂ 、VE 缺乏)研究 内分泌学研究 细菌、病毒研究 寄生虫学研究	金黄地鼠 中国地鼠(真性糖尿病) 近交中国地鼠 肾组织培养接种 中国地鼠
长爪沙鼠	药理学研究 内分泌学研究 微生物学研究 寄生虫学研究 脑神经科学研究 营养代谢学研究	中国地鼠 金黄地鼠
九带犴狽	麻风病及麻风疫苗、斑疹伤寒的研究	
黑线姬鼠	出血热、人类多种细菌、病毒、抗体研究	
鼠 兔	药理、毒理、疾病模型(自身免疫痢疾疾病模型)	
棉 鼠	多种微生物感染、疫苗制备及寄生虫学、脑脊髓炎研究	
袋 鼠	自发性和感染性心内膜炎,肾小球肾炎研究	
蝙 蝠	计划生育研究	
鱼 类	药物的毒理学和药理学实验,肿瘤学研究	
貂	自然疫病模型(肌肉萎缩症)	
果子鼠	非典型性肺炎研究	

第二节 小鼠和大鼠

一、生理解剖特点

(一)小鼠

1. 小鼠产鼠数多,繁殖力强,一胎最多可产 12~15 只,育龄 12~14 月。
2. 对外源刺激敏感,如细菌、青霉素。
3. 自发性肿瘤多。
4. 夜间活动,不耐冷和热,抗病力差,特别不耐热,出汗后即会死亡。
5. 尾长,尾静脉给药易。
6. 成年雌鼠阴道黏膜可发生周期性典型变化。
7. 小鼠毛色多,双管状子宫(雌性)。

(二)大鼠

1. 无胆囊,心电图无 ST 段。
2. 肝再生能力强,切除 89%~92% 仍能存活。
3. 应激反应灵敏。
4. 不能呕吐。
5. 对炎症反应灵敏。
6. 视觉、嗅觉灵敏。
7. 血压和血管阻力对药物反应敏感。
8. 抗病力强,易激怒。
9. 产仔数多,最高产仔 10~14 只,育龄 1~1.5 年,1 年内为最好。

二、大、小鼠的解剖结构

大、小鼠解剖结构基本类同。

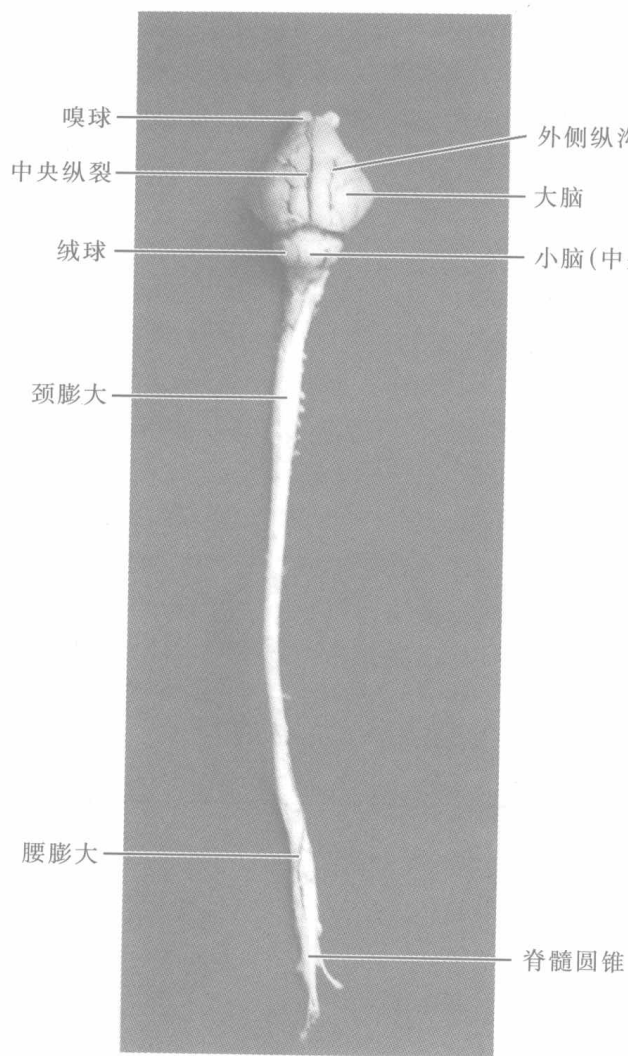


图 2-2-1A 大鼠脑与脊髓背面观

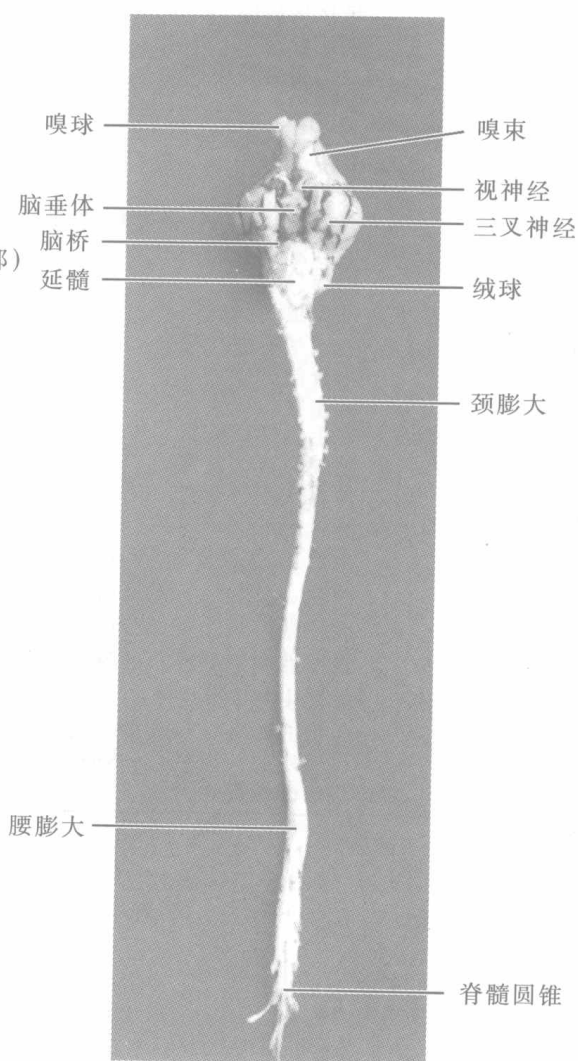


图 2-2-1B 大鼠脑与脊髓腹面观

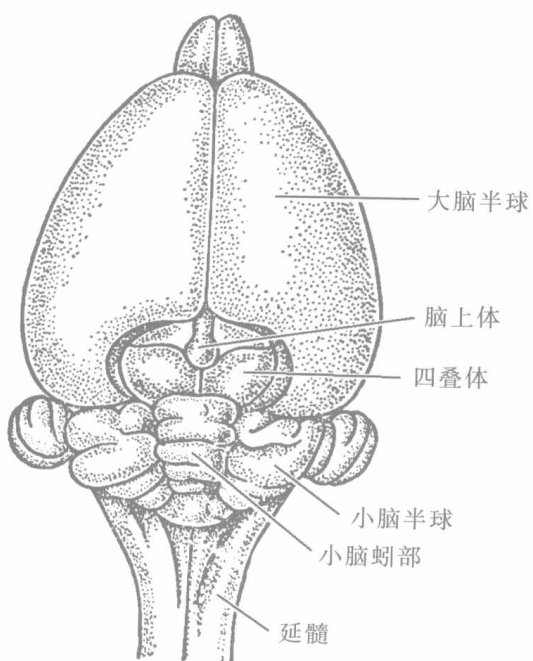


图 2-2-1C 大鼠脑背面观

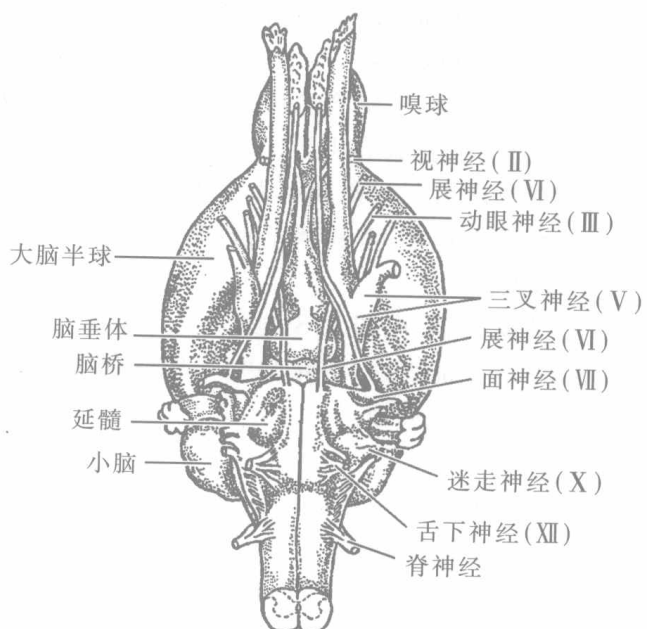


图 2-2-1D 大鼠脑腹面观