


国家“十一五”重点图书
现代生物医学科研技术丛书



老鼠先生,
您得了人类疾病!

常见人类疾病 动物模型的制备方法

秦川◎主编



北京大学医学出版社

国家“十一五”重点图书
现代生物医学科研技术丛书

常见人类疾病动物模型的 制备方法

主 编 秦 川

副主编 张连峰 潘振业 杜冠华

编 者

中国医学科学院实验动物研究所	秦 川	张连峰	魏 强
	涂新明	孔 琪	杨秀红
	刘 鹏	李国生	于 浩
	鲍琳琳	邓 巍	代小伟
	杜 静	许 晶	
上海交通大学医学院	潘振业	严国锋	姜 莹
中国医学科学院药物研究所	杜冠华	郑元元	孙 兰
	王金华		
中国医学科学院肿瘤研究所	林 晨	张 谨	
北京安贞医院	顾 云		

北京大学医学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

常见人类疾病动物模型的制备方法/秦川主编. —北京:
北京大学医学出版社, 2007. 4

(现代生物医学科研技术丛书)

ISBN 978-7-81116-231-8

I. 常… II. 秦… III. 疾病—实验动物—模型
IV. R441-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 034556 号

常见人类疾病动物模型的制备方法

主 编: 秦 川

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 莱芜市圣龙印务有限责任公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 药 蓉 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 880mm×1230mm 1/32 印张: 8.75 插页: 4 字数: 265 千字

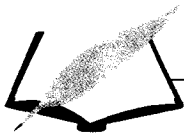
版 次: 2007 年 10 月第 1 版 2007 年 10 月第 1 次印刷 印数: 1-3000 册

书 号: ISBN 978-7-81116-231-8

定 价: 23.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)



出版说明

生物医学科研领域的技术多，方法杂，而且伴随着科技进步，还在不断涌现新的技术和方法。为了让该领域的研究人员能够扎实地掌握基本技术，提高在操作中解决实际问题的能力，并能在较短的时间内了解和应用新的方法、技术，我们策划并出版了这套《现代生物医学科研技术丛书》。本套丛书具有以下几点特色：

1. 专家牵头，组织有长期实践经验的一线科研工作者编写。每本书特别增加了“写在前面的话”，由作者介绍自己在科研实践中的思路和心得，为读者提供启示与帮助。

2. 内容全面，重点突出。本套丛书全面囊括了生物医学领域中的常用实验技术，并重点介绍一些新兴的、热门的技术，同时还包括几本专门介绍与科研相关的仪器设备的使用和计算机软件应用的图书，以方便读者使用。

3. 内容简明、实用。本套丛书注重操作，强调经验的总结。内容中的“注意事项”，介绍影响实验结果的关键步骤或易于出错的地方。

本丛书主要面向生物、医学专业的研究生、高年级本科生，以及相关专业的其他研究人员。我们真诚地希望，这套丛书能为各位读者的科研实践提供切实有效的帮助。



写在前面的话

实验动物科学是以为医学研究、药学研究和生命科学研究提供合格的实验动物、疾病模型和相应的实验条件为宗旨的交叉学科；比较医学是对动物模型的医学研究和人类医学研究进行比较，进而为人类医学研究服务的学科。

实验动物科学是医学研究的支撑条件之一，比较医学是联系实验动物科学和医学的桥梁。虽然我国利用动物进行医学研究有很长的历史，但现代意义上的实验动物科学和比较医学的起步是在中国改革开放之后，我们这一代从事实验动物科学和比较医学研究的科学工作者大多是从医学和动物科学转入这一领域的。可以说，我们是在摸索和学习中建立了中国实验动物科学和比较医学的基础。以下是我 20 多年研究的粗浅体会，希望对年轻的研究者有所启发。

(1) 比较医学是医学研究的前沿

比较医学是应用实验动物的生命系统对人类健康与疾病关系及其发生发展规律进行类比研究的科学，是生命科学、医学高水平研究的重要支撑学科，在研究人类疾病的发病机理、预防、治疗等方面有着不可替代的作用。它是生命科学的重要组成部分，也是多个相关学科相互融合、相互渗透的重要交叉学科。比较医学是一门发展前景广阔、应用潜力巨大的学科。正如诺贝尔奖获得者 G. D. Snell 博士说，“比较医学是推动人类健康研究的焦点学科，比较医学永远站在生物医学发展的基础之上。”比较医学的重要性在于更深入地了解人类疾病发生、发展规律，寻找到预防、诊断、治疗疾病的正确途径，达到控制人类疾病、衰老和延长寿命的目的。同时对于扩大人们的视野、更新理论观念、拓展思维方式与空间、促进学术交流、加速现代医学的发展，起着十分重要的作用。近 50 年来，世界有 57 项重大发现，其中 35

项是通过动物实验方法学获得的，近 10 年医学相关的诺贝尔奖，有 7 次是使用动物研究取得的成果。我国的医学研究和生命科学工作者应该认识到这一学科的重要作用，在医学研究工作中充分利用这一重要的工具。

(2) 关爱模型动物是研究者的责任和取得可靠研究结果的条件

实验动物在医学研究中是人类的替难者，正是它们不自觉的，或不自愿的牺牲，为人类医学的进步做出了贡献。研究者对使用的实验动物的关爱是体现国民素质——对生命基本价值尊敬的体现，也是现在国际社会对实验动物使用者的要求。在模型制作过程中对动物进行适当的麻醉、消炎和术后护理，使动物的痛苦减到最小，并在适宜的环境中饲养，对模型制作的成败和一系列生理生化指标都有影响；牺牲模型动物的方法对组织样品的质量也有影响。实验动物的微生物和寄生虫背景更是和实验的成败和可靠性直接相关。所以，关爱模型动物也是取得可靠研究结果的条件，这也是本书中设专门章节介绍动物伦理的目的。

(3) 动物模型的局限性

比较医学的研究内容分为两个方面：一是比较不同动物对同一病原或病因所引发的各种反应，综合成多维的“全息图像”，寻求接近人类疾病的最大公约数的动物模型——人类疾病动物模型；二是对人类疾病的特定替代模型的实验数据进行诠释，界定特定疾病模型和人类疾病在组织病理、细胞和分子机制方面的相似度，开展实验动物模型的可控研究，力求阐明特定模型在人类疾病研究中的适用范围。对不同物种的疾病发生、发展进行比较，以求获得疾病四维全息图像，从而通过疾病模型了解人类疾病的致病过程，用于疾病的诊断和治疗、病理学、生理学、药理学、毒理学以及新药创制等的研究。作为毒性安全评价，实验动物是公认的有效工具，但是在药效学和疾病机理研究方面，人类疾病动物模型作为人类的替难者仍然存在很多问题。有两个方面的原因使得动物模型不能完全反映人类疾病，一是动物和人类

存在遗传背景的差异；二是模型制作方法、研究方法的限制和研究信息的缺乏。研究者在使用疾病模型进行研究时，要考虑模型的适应性，选择最适宜的模型，同时在将模型上的研究结果向人类疾病类推时，也要考虑模型的局限性。

综上，疾病动物模型是活的生物系统，它对环境的要求、对操作人员的要求等比高科技设备要求得更高。只有最严谨的科学态度对待实验动物，才能得到可靠的研究结果；同时比较医学研究的成果不能没有限制地外推到人类，在研究中要认识到疾病模型的局限性。

秦 川

病理生理学博士

比较病理学教授

国家实验动物病理检测实验室主任

实验动物研究所所长

目 录

第 1 章 生化和病理检测的基本方法	1
1.1 取尿样、血样、体液	1
1.2 病理标本的取材、固定、切片.....	13
1.3 病理标本的固定.....	20
1.4 常见染色方法.....	23
1.5 动物行为观察方法.....	28
第 2 章 转基因小鼠的制备方法	30
2.1 转基因载体.....	30
2.2 DNA 的制备与纯化	31
2.3 小鼠的超排卵.....	33
2.4 导入基因的鉴定.....	35
2.5 PMSG、HCG 的配制方法	36
2.6 检查阴栓的方法.....	36
2.7 颈椎脱臼法.....	36
2.8 显微操作仪使用规程.....	36
第 3 章 神经系统疾病动物模型	39
3.1 卒中.....	39
3.2 麻痹症和特发性多神经根神经炎.....	40
3.3 先天性脑积水.....	41
3.4 急性脑积水.....	42
3.5 肌营养不良症.....	43
3.6 老年性痴呆症.....	45
3.7 帕金森综合征.....	53
3.8 记忆减退和痴呆.....	57
3.9 脑血管病.....	61
第 4 章 循环系统疾病动物模型	65
4.1 高血压, 高脂血症.....	65

4.2	肺心病	68
4.3	饮食诱发的血栓栓塞和心肌梗死	69
4.4	心内膜弹力纤维增生症	69
4.5	室性心律失常	70
4.6	心绞痛	71
4.7	血栓闭塞性脉管炎	72
4.8	结扎冠状动脉致急性缺血性心力衰竭	73
4.9	高血压基因工程动物模型	74
4.10	心肌病	81
第5章	呼吸系统疾病动物模型	88
5.1	脂多糖诱导慢性支气管炎	88
5.2	急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)	89
5.3	哮喘	90
5.4	肺水肿	93
5.5	肺源性心脏病	94
第6章	消化系统疾病动物模型	96
6.1	胃黏膜对卵白蛋白过敏引起的胃溃疡	96
6.2	十二指肠溃疡	96
6.3	溃疡性结肠炎	96
6.4	大鼠脂肪肝	98
6.5	胃炎	98
6.6	肝炎	99
6.7	胰腺炎	100
第7章	泌尿系统疾病动物模型	102
7.1	增生性肾小球肾炎	102
7.2	抗肾小球基底膜抗体引起的肾炎	104
7.3	遗传性肾炎	106
7.4	尿路结石	107
7.5	肾结石	108
7.6	膀胱结石	109
7.7	肾功能衰竭	109
7.8	肾坏死	111

第 8 章	血液系统疾病动物模型	114
8.1	遗传性低色素性贫血	114
8.2	L 细胞系巨幼细胞贫血小鼠模型	115
8.3	弥散性血管内凝血	115
8.4	白细胞减少症	116
8.5	溶血性贫血	116
第 9 章	内分泌系统疾病	118
9.1	垂体病	118
9.2	肾上腺皮质疾病	121
9.3	糖尿病	121
第 10 章	肿瘤动物模型	137
10.1	自发性动物肿瘤模型.....	137
10.2	诱发性动物肿瘤模型.....	138
10.3	常用移植性动物肿瘤模型.....	140
10.4	常用人癌裸鼠移植性肿瘤模型.....	147
10.5	实验中应注意的问题.....	149
第 11 章	免疫性疾病动物模型	152
11.1	自身免疫性疾病.....	152
11.2	IgE 转基因 BALB/c CrSlc 小鼠模型	156
11.3	自身免疫性肝病.....	156
11.4	转基因动物模型.....	157
第 12 章	五官系统动物模型	159
12.1	通过饮食建立牙周炎模型.....	159
12.2	蒿花粉和蛋清蛋白诱导变态反应性鼻炎.....	159
12.3	口腔黏膜溃疡.....	160
第 13 章	感染性疾病动物模型	164
13.1	病毒性心肌炎.....	164
13.2	SARS	164
13.3	病毒性肝炎.....	173
13.4	HIV 和 SIV	176
第 14 章	妇科疾病动物模型	181
14.1	多囊卵巢综合征.....	181

14.2	更年期综合征·····	182
14.3	乳腺增生·····	183
第 15 章	实验动物伦理学 ·····	184
15.1	生命伦理学·····	184
15.2	实验动物伦理学的基本概念·····	184
15.3	实验动物伦理学的研究对象·····	185
15.4	主要研究内容·····	185
15.5	伦理审查制度·····	190
第 16 章	常用实验动物品系简述 ·····	195
16.1	实验动物生产单位及联系方式·····	195
16.2	常用实验动物背景资料·····	212
16.3	常用实验动物的生物学特性·····	242

1.1 取尿样、血样、体液

1.1.1 尿液的采集方法

1. 代谢笼采集尿液 将动物放在特制的笼内饲养（图 1.1），动物排便时，可通过笼子底部的大小便分离漏斗，将尿液与粪便分开，达到采集尿液的目的。

2. 输尿管插管采集尿液 在动物输尿管内插一根塑料套管收集尿液。适用于兔、猫、犬等。常用于一侧肾功能研究时分侧收集尿液。以兔为例，操作方法如下：用 20% 氨基甲酸乙酯静脉麻醉家兔（5ml/kg），仰卧固定在实验台上。于耻骨联合上缘向上沿正中线作 4cm 长皮肤切口，再沿腹白线剪开腹壁寻找膀胱，将其翻出腹外，在膀胱底两侧找到输尿管。在输尿管靠近膀胱处，用细线扣一松结，以玻璃分针或有钩小镊提起输尿管管壁，于输尿管上剪一小口。从小口向肾脏方向插入一根适当大小的细塑料导管，并将松结打紧以固定插管，这时可见尿液慢慢由导管流出。如图 1.1 所示，将导管开口固定于记滴器上，记录单位时间内尿液滴数。将滴下的尿液用量器收集，测其尿液量。实验过程中，应用温生理盐水纱布，将手术部位覆盖，以保持动物腹腔温度和湿润肠管。

3. 尿道插管采集尿液 以雄性家兔尿液的收集为例，一般用 2kg 以上的雄兔，按 30~60ml/kg 给兔灌水，1h 后用 25% 乌拉坦溶液 4ml/kg 耳缘静脉麻醉，将家兔固定于兔台上，由耳缘静脉以每分钟 2ml 速度注入 5% 葡萄糖盐水，由尿道徐徐插入导尿管（顶端应先用液体石蜡涂抹），一般均无阻力。插入深度约 22cm 左右，可根据动物大小而定。当导尿管插入膀胱时，尿液立即从管中流

出，证明插入正确（图 1.2），用胶布将导尿管固定好，压迫下腹部排空膀胱，然后收集正常尿液，给药后再收集尿液。在收集尿液期间应经常转动导尿管。

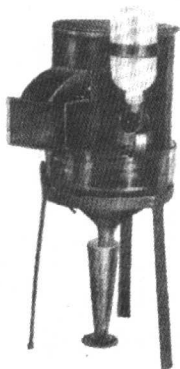


图 1.1 兔代谢笼采集尿液

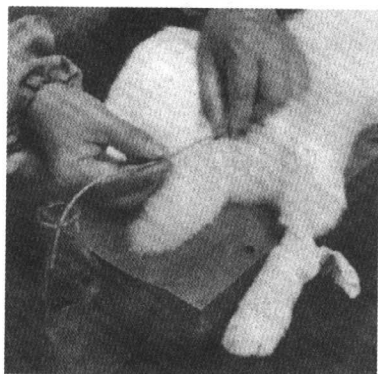


图 1.2 兔尿道插管采集尿液

4. 膀胱手术插管采集尿液 一般用于犬等较大动物，麻醉后固定于手术台上在下腹部做手术切口，长约 6~8cm，从切口处取出膀胱，将金属套管插入膀胱，套管应当用小型而其底的边缘应向下翻成杯状，以免当膀胱缩小时损伤膀胱壁。用粗线在膀胱体部的前壁穿过肌肉层作一椭圆形荷包口缝线。在荷包缝线下面用手夹住膀胱体部，然后顺着荷包口缝线的长轴切开膀胱，两端保留长约 3~4mm 的边缘。用小钩钩住切口的两端，将套管底盘插入膀胱腔内，随后把荷包口缝线结扎紧。然后将套管固定在腹壁切口上，同时缝合腹壁切口。平时用套管塞塞住瘻管口，实验时将其打开，用橡皮带将一漏斗绑到膀胱瘻管上，漏斗下面放小瓶收集尿液。

5. 穿刺膀胱采集尿液 此方法具有快速、方便和对尿道损伤小的优点。以犬为例，操作方法如下：将犬麻醉后仰卧并固定于手术台上，剃去腹正中区域皮毛，在耻骨联合上方准备穿刺点处消毒后，用左手触摸并固定膀胱，右手持事先准备好的连有 5ml 注射器 10cm 长的粗针头经皮刺入膀胱，入皮后针头应稍改变一下角度，以免穿刺后漏尿。刺入时慢慢深入，边进边抽吸，以抽出尿液为度。穿刺位置在耻骨联合上 18cm，如一次抽不到尿液，需拔出

针头重新刺入。抽到尿液后用左手固定针头，取下针筒，再选用5号儿童导尿管经针头管道插入膀胱内，直到尿液从导管流出，然后轻轻拔出针头，留置导管，用缝一针法固定导管，以免滑脱，将导尿管尾端夹一静脉夹，可以定时控制尿液的收集和排放。

6. 压迫膀胱采集尿液 在有些动物实验中，常为了某种实验目的，要求间隔一定的时间采集一次尿液，以观察药物的排泄情况。动物轻度麻醉后（20%氨基甲酸乙酯静脉麻醉家兔5ml/kg），实验人员用手在动物后腹部加压，手要轻柔而有力。当压力足以使动物膀胱括约肌松弛时，尿液就会自动由尿道排出，如图1.3。此法适用于家兔、猫、犬等较大动物。



图 1.3 压迫膀胱采集尿液

7. 剖腹采集尿液 术前准备同上述穿刺法。皮肤切口范围应大一些，剖腹暴露膀胱，用无齿镊夹住一小部分膀胱壁，然后将针在小镊夹住的膀胱部位直接穿刺抽取尿液。抽尿时，应避免针头贴在膀胱壁上而抽不出尿液。

8. 反射排尿采集尿液 这种采集尿液的方法适用于小鼠，因小鼠被人抓住尾巴提起时排尿反射比较明显。当实验需要采取少量尿液时，可提起小鼠，将小鼠排出的尿液吸取，供实验用。

1.1.2 血液的采集方法

实验研究中，经常要采集实验动物的血液进行常规检查或某些生化分析，故必须掌握血液的正确采集、分离和保存的操作技术。

实验动物的采血方法很多，按采血部位不同，可分为：尾静脉采血、耳静脉采血、眼眶静脉丛采血、断头采血、心脏采血、颈动（静）脉采血、股动（静）脉采血等。选择什么采血部位与使用何种采血方法，视动物种类、检测目的、试验方法以及所需血量而

定。不同动物采血部位、采血量及常见实验动物的最大安全采血量与最小致死采血量见表 1.1。

表 1.1 常用实验动物采血部位、采血量及最大安全采血量与最小致死采血量

动物品种	采血量	采血部位	最大安全采血量 (ml)	最小致死采血量 (ml)
小鼠	取少量血	尾静脉、眼底静脉丛	0.2	0.3
	取中量血	心脏、断头		
	取大量血	摘眼球		
大鼠	取少量血	尾静脉、眼底静脉丛	1	2
	取中量血	心脏、断头		
	取大量血	摘眼球		
豚鼠	取少量血	耳缘剪口	5	10
	取中量血	心脏		
	取大量血	股动脉、颈动脉		
兔	取少量血	耳静脉、眼底静脉、舌下静脉	10	40
	取中量血	耳中央动脉		
	取大量血	股动脉、颈动脉、心脏		
犬	取少量血	耳静脉	50	200
	取中量血	后肢外侧皮下小隐静脉、前肢内侧皮下头静脉、耳中央动脉、颈静脉		
	取大量血	股动脉、颈动脉、心脏		
猴	取少量血	毛细血管	15	60
	取中量血	后肢外侧皮下小隐静脉、前肢内侧皮下头静脉		
	取大量血	股动脉、颈动脉、心脏		

采血时要注意：(1) 采血场所有充足的光线；室温最好保持在夏季 25~28℃，冬季 15~20℃为宜；(2) 采血用具、采血部位一般需要进行消毒；(3) 采血用的注射器和试管必须保持清洁干燥；(4) 若需抗凝全血，在注射器或试管内需预先加入抗凝剂；(5) 所需采血量应控制在动物的最大安全采血量范围内。

1. 小鼠、大鼠采血法

(1) 剪尾或切开尾静脉采血：需血量很少时采用本法。首先固定动物并露出鼠尾，将尾部毛剪去后消毒，然后浸泡在 45℃ 左右的温水中数分钟，也可用乙醇或二甲苯反复擦拭使尾部血管扩张。再将尾擦干，用剪刀割去尾尖（小鼠 1~2mm，大鼠 5~10mm）让血液自由滴入盛器或用血红蛋白吸管吸取，采血结束，伤口消毒并压迫止血。也可在尾部作一横切口，割破尾动脉或静脉，收集血液的方法同上，如图 1.4。每只鼠一般可采血 10 余次。小鼠每次可取血 0.1ml，大鼠 0.3~0.5ml。

(2) 针刺鼠尾静脉采血：大鼠用血量不多时（仅做白细胞计数或血红蛋白检查），可采用本法。固定动物，先将鼠尾用温水擦拭，再用乙醇消毒和擦拭，使鼠尾充血。用 7 号或 8 号注射针头，在尾尖部向上数厘米处刺入鼠尾静脉，拔出针头时即有血滴出。如果长期反复取血，应先靠近鼠尾末端穿刺，以后再逐渐向近心端穿刺，然后局部压迫止血。

(3) 眼眶静脉丛采血：当需要多次反复采血时，常使用本法。首先用乙醚将动物浅麻醉，采血者的左手拇、示两指从背部较紧地握住小鼠或大鼠的颈部，应防止动物窒息。取血时，左手拇指及示指轻轻压迫动物的颈部两侧，使眶后静脉丛充血。右手持 7 号针头的 1ml 注射器或长颈（3~4cm）硬质玻璃滴管（毛细管内径 0.5~1.0mm），使采血器与鼠面成 45° 的夹角，由眼内角刺入，针头斜面先向眼球，刺入后再转 180° 使斜面对着眼眶后界（图 1.5），刺入深度小鼠约 2~3mm、大鼠约 4~5mm。当感到有阻力时即停止进针，再将针后退约 0.1~0.5mm，边退边抽。若穿刺适当，血液能自然流入毛细管中。当得到所需的血量后，即除去加于颈部的压力，同时将采血器拔出，用消毒纱布压迫眼球 30 秒，以防止术后穿刺孔出血。若技术熟练，用本法短期内可重复采血均无大困难。

左右两眼轮换更好。体重 20~25g 的小鼠每次可采血 0.2~0.3ml；体重 200~300g 大鼠每次可采血 0.5~1.0ml。

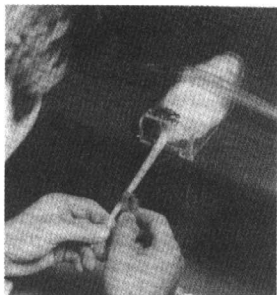


图 1.4 剪尾静脉采血

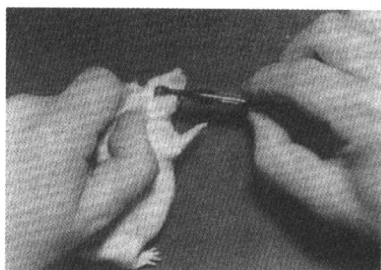


图 1.5 眼眶静脉丛采血

(4) 心脏采血：鼠类的心脏较小，且心率较快，心脏采血比较困难，故较少采用心脏采血。操作时，将动物仰卧固定于鼠板上，剪去胸前区的皮毛，用碘酒、乙醇消毒皮肤。在左侧第 3~4 肋间，用左手示指摸到心搏处，右手持带有 4~5 号针头的注射器，选择心搏最强处穿刺。心脏采血注意要点：①要迅速直接插入心脏，否则，心脏将从针尖移开；②如第一次没刺准，将针头抽出重刺，不要在心脏周围乱探，以免损伤心、肺；③要缓慢而稳定地抽吸，否则太多的真空反而使心脏塌陷。

若做开胸一次死亡采血，先将动物作深麻醉，打开胸腔，暴露心脏，用针头刺入右心室，吸取血液。小鼠约 0.5~0.6ml；大鼠约 0.8~1.2ml。

(5) 颈动脉采血：先将动物仰位固定，切开颈部皮肤，分离皮下结缔组织，使颈静脉充分暴露，用动脉夹夹住近心端，针尖斜面向上朝远心端刺入静脉，缓慢抽吸。在气管两侧分离出颈动脉，远心端结扎，将针头朝近心端刺入，动脉血压力大，勿需或只需轻轻抽吸。

(6) 腹主动脉采血：先用乙醚将动物麻醉，仰卧固定在手术架上，从腹正中线皮肤切开腹腔，将肠管向左或向右推向一侧，使腹主动脉清楚暴露。在腹主动脉远心端结扎，再用动脉夹夹住近心端，然后在其间平行刺入，松开动脉夹，立即采血。