



卫生部“十一五”规划教材

全国高等学校配套教材

供预防医学类专业用

毒 理 学

实验方法与技术

第 2 版

主 审 / 庄志雄

主 编 / 王心如

副主编 / 周宗灿



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

卫生部“十一五”规划教材

全国高等学校配套教材

供预防医学类专业用

毒理学实验方法与技术

第2版

主 审 庄志雄

主 编 王心如

副主编 周宗灿

编 者 (以姓氏笔画为序)

王心如 (南京医科大学公共卫生学院)	张爱华 (贵阳医学院公共卫生学院)
火忠礼 (内蒙古科技大学公共卫生学院)	周宗灿 (北京大学公共卫生学院)
石 年 (华中科技大学公共卫生学院)	金泰虞 (复旦大学公共卫生学院)
朱心强 (浙江大学公共卫生学院)	钟才高 (中南大学公共卫生学院)
孙志伟 (吉林大学公共卫生学院)	徐培渝 (四川大学公共卫生学院)
刘起展 (南京医科大学公共卫生学院)	徐德祥 (安徽医科大学公共卫生学院)
陈 雯 (中山大学公共卫生学院)	谢克勤 (山东大学公共卫生学院)
李百祥 (哈尔滨医科大学公共卫生学院)	蔡 原 (中国医科大学公共卫生学院)
张 巧 (郑州大学公共卫生学院)	裴秋玲 (山西医科大学公共卫生学院)

秘书 刘起展 (南京医科大学公共卫生学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

毒理学实验方法与技术 / 王心如主编. —2 版. —北京:
人民卫生出版社, 2007.8

ISBN 978-7-117-08919-7

I. 毒… II. 王… III. 毒理学-实验-医学院校-教学
参考资料 IV. R99-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 099582 号

本书本印次封底贴有防伪标。请注意识别。

毒理学实验方法与技术 第 2 版

主 编: 王心如

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 19

字 数: 431 千字

版 次: 2003 年 8 月第 1 版 2007 年 7 月第 2 版第 4 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-08919-7/R·8920

定 价: 26.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

毒理学是研究外源性化学因素、物理因素和生物因素对生物系统的损害作用、生物学机制、安全性评价与危险性分析的科学。毒理学兼有基础科学和应用学科的鲜明特征，是现代医药学尤其是公共卫生与预防医学专业的一门重要基础课程。毒理学与人类历史、生命科学同步发展，她源于实验医学和治疗学，而实验毒理学也促进了现代医学的发展。编者认为，毒理学是一门实验科学，毒理学基础理论与实践技能对于高素质、创新型预防医学专业人才的培养具有同等重要的地位，尝试编写并进一步修订本教材《毒理学实验方法与技术》，正是基于这一主要观点和根本目的。

全书共分十四章。前五章重点介绍了毒理学实验基础、一般毒性试验、特殊毒性试验、分子毒理学实验和细胞毒理学实验的方法与技术；后9章主要描述了靶器官（血液、免疫、生殖、神经、呼吸、肝脏、肾脏、心血管和皮肤）毒理学研究的方法与技术。本教材（下篇）具有与上篇教材《毒理学基础》前后衔接、经典实验方法与现代生物分析技术紧密结合以及适用性和可操作性强等主要特点。

本书可用作全国高等医药院校本科生、研究生的毒理学实习教材或科研入门的参考书，各院校可根据不同的培养规格、目标与要求以及自身的实验教学条件，精心组织、科学选择适当的实验方法与技术，开展以问题为中心（PBL）、形式多样的设计性和综合性实验教学活动。

本版教材的编写得到了卫生部教材办公室和人民卫生出版社的直接指导和大力支持，参加编写的各位专家、教授和中国毒理学会理事长庄志雄教授付出了辛勤工作的汗水，我们仅此一并表示最诚挚的感谢。限于时间和水平，本教材定有错误和不妥之处，敬希广大师生提出宝贵意见，以便今后进一步修订使之日臻完善。

王心如 周宗灿

2007年4月

目 录

第一章 毒理学实验基础	1
第一节 毒理学实验的原则和局限性.....	1
第二节 毒理学毒性评价试验的基本目的.....	3
第三节 动物实验的职业道德.....	4
第四节 实验动物的选择和管理.....	5
一、实验动物物种的选择.....	5
二、实验动物品系的选择.....	5
三、对实验动物微生物和寄生虫控制的选择.....	7
四、个体选择.....	8
五、实验动物的管理.....	9
第五节 受试物和样品的准备.....	9
第六节 实验动物的准备和操作.....	11
第七节 实验动物染毒和处置.....	14
一、实验动物染毒.....	14
二、实验动物生物标本采集及处死.....	18
第八节 毒理学试验的统计学基础.....	20
一、毒理学试验设计要点.....	20
二、毒理学试验的统计学要点.....	23
三、统计学意义、生物学意义和毒理学意义.....	25
第九节 优良实验研究规范.....	27
第十节 转基因动物模型.....	28
一、转基因动物的培育原理与技术方法.....	28
二、转基因动物模型在毒理学中的应用.....	30
第二章 一般毒性试验	34
第一节 急性毒性试验.....	34
一、经口急性毒性试验.....	34
二、经呼吸道静式吸入急性毒性试验.....	38
三、经皮肤急性毒性试验.....	39
第二节 局部毒性试验.....	39
一、急性眼刺激试验.....	40
二、阴道黏膜刺激试验.....	42

第三节 亚慢性毒性试验	44
第三章 特殊毒性试验	47
第一节 致突变试验	47
一、鼠伤寒沙门菌营养缺陷型回复突变试验	47
二、哺乳动物细胞基因突变试验	51
三、染色体畸变分析	56
四、小鼠骨髓细胞微核试验	59
五、单细胞凝胶电泳技术	60
第二节 致癌试验	63
一、哺乳动物细胞体外恶性转化试验	63
二、哺乳动物长期致癌试验	65
第三节 发育毒性和致畸作用试验	66
一、三段生殖毒性试验	67
二、大鼠体外全胚胎培养试验	72
三、胚胎干细胞实验	77
第四章 分子毒理学实验	83
第一节 生物大分子的分离与纯化	83
一、组织与细胞核酸的分离与纯化	84
二、组织与细胞蛋白质的分离与纯化	88
第二节 生物大分子损伤的检测	93
一、DNA 链断裂	93
二、DNA 交联	95
三、DNA 加合物	97
四、DNA 氧化产物	98
五、蛋白质氧化产物	101
第三节 基因突变和多态性检测	105
一、DNA 印迹	105
二、荧光原位杂交	107
三、聚合酶链反应-单链构象多态性分析	109
四、聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析	112
五、微卫星分析	113
第四节 基因表达及调控检测	114
一、基因差异分析技术	114
二、DNA 甲基化	119
三、差异蛋白质组学技术	120
第五节 基因转染和沉默	123
一、基因转染	123
二、RNA 干扰技术	126

第五章 细胞毒理学实验	128
第一节 细胞毒性的检测	128
一、体外细胞毒性试验的种类和选择依据.....	128
二、细胞存活率测定.....	130
三、细胞增殖测定.....	132
四、细胞代谢活力测定.....	133
第二节 细胞形态学研究	135
一、普通显微镜观察方法.....	135
二、电子显微镜观测技术.....	137
第三节 细胞凋亡的检测	140
一、形态学观察方法.....	140
二、生化特征检测方法.....	142
第四节 流式细胞仪分析技术	145
一、流式细胞仪的检测原理和应用.....	145
二、细胞周期检测.....	146
三、细胞凋亡检测.....	147
第五节 免疫细胞化学	149
一、免疫细胞化学染色方法.....	149
二、免疫荧光细胞化学.....	150
三、免疫酶联细胞化学.....	151
四、亲和免疫细胞化学.....	152
第六节 激光共聚焦显微镜和荧光标记技术	154
一、激光扫描共聚焦显微镜.....	154
二、荧光标记技术.....	156
三、细胞内钙离子测定.....	157
第六章 血液毒理学研究	159
第一节 红细胞毒理学检测	159
一、网织红细胞计数.....	159
二、红细胞渗透脆性试验.....	160
三、高铁血红蛋白含量测定.....	161
四、变性珠蛋白小体测定.....	161
五、碳氧血红蛋白测定.....	162
六、铁动力学试验.....	163
第二节 白细胞和血小板毒理学检测	163
一、白细胞墨汁吞噬试验.....	163
二、血小板黏附试验.....	164
第三节 凝血功能毒理学检测	165
一、活化部分凝血活酶时间测定.....	166
二、血浆凝血酶原时间测定.....	167

三、血浆凝血酶时间测定·····	168
第四节 骨髓毒理学检测 ·····	168
一、骨髓细胞学检查·····	168
二、外源性脾结节测定·····	170
三、体内扩散盒琼脂培养技术·····	171
四、骨髓微循环观察·····	171
第七章 免疫毒理学研究 ·····	172
第一节 免疫抑制检测方法 ·····	172
一、体液免疫功能测定·····	172
二、淋巴细胞增殖试验·····	175
三、细胞免疫功能测定·····	176
四、NK 细胞活性测定·····	177
第二节 变态反应检测方法 ·····	179
一、皮肤变态反应测定·····	179
二、豚鼠支气管激发试验·····	180
第八章 生殖毒理学研究 ·····	182
第一节 生殖毒性试验 ·····	182
一、一代生殖毒性试验·····	182
二、两代(多代)生殖毒性试验·····	184
第二节 环境内分泌干扰物生物学活性检测 ·····	185
一、大鼠子宫增重试验·····	185
二、雌激素受体竞争结合试验·····	186
三、MCF-7 细胞增殖试验·····	188
四、雄激素受体介导的转录激活试验·····	189
五、雌激素受体介导的转录激活试验·····	190
六、甲状腺激素受体介导的转录激活试验·····	191
第三节 精子动力学分析 ·····	193
第四节 性激素水平分析 ·····	194
一、血清或睾丸(卵巢)组织匀浆液中促卵泡激素含量测定·····	194
二、尿液中促卵泡激素含量测定·····	196
三、尿液中人绒毛膜促性腺激素含量测定·····	198
第九章 神经毒理学研究 ·····	200
第一节 神经毒性评价方法 ·····	200
一、迟发性神经毒性试验·····	200
二、形态学方法·····	202
三、生理与生物化学方法·····	204
四、分子生物学方法·····	211
五、电生理实验方法·····	214

第二节 神经行为功能评价方法	215
一、FIOH 测试组合	215
二、WHO-NCTB 测试组合	216
三、NES 方法	216
第三节 行为发育毒性测试方法	216
一、行为发育毒性测试组合	216
二、行为发育毒性研究组合	218
第十章 呼吸毒理学研究	223
第一节 整体实验研究方法	223
一、肺功能测定	223
二、整体动物药物引喘法	226
三、在体支气管肺泡灌洗与支气管肺泡灌洗液分析	227
第二节 离体试验法	228
一、离体肺灌流与分析	228
二、离体气管片实验法	229
三、胎鼠肺细胞原代培养与上皮细胞纯化	231
第十一章 肝脏毒理学研究	233
第一节 肝损害的体内评价方法	233
一、肝微粒体制备及相关酶活性测定	233
二、肝脏排泄功能测定	237
三、肝脏分泌功能测定	240
四、肝纤维化测定	242
第二节 肝损害的体外评价方法	244
一、体外离体肝灌流与分析	244
二、大鼠肝细胞原代培养试验方法	245
三、肝细胞膜流动性检测——荧光偏振法	248
四、肝细胞线粒体膜通透性转运孔检测——荧光分光光度法	250
第十二章 肾脏毒理学研究	253
第一节 体内实验	253
一、尿液的一般生化指标	253
二、肾脏血流动力学和血流量分析	254
三、肾小球滤过率和肾脏清除率测定	256
四、肾脏的微穿刺和微灌注技术与应用	261
五、电子探针微分析法	262
第二节 体外试验	263
一、体外细胞培养与细胞毒性试验	263
二、肾膜囊泡的分离与应用	264
第十三章 心血管毒理学研究	265

第一节 心功能评价方法	265
一、心电图	265
二、心向量图	265
三、心排量	266
四、心阻抗血流图	266
五、超声心动图	266
六、磁共振技术	266
第二节 心血管毒理学体外研究方法	267
一、心肌细胞原代培养	267
二、大鼠血管内皮细胞原代培养	268
第三节 心血管毒理学体内研究方法	269
第十四章 皮肤毒理学研究	271
第一节 皮肤刺激性与腐蚀性试验	271
一、家兔皮肤刺激性与腐蚀性试验	271
二、急性眼刺激性与腐蚀性试验	275
三、人体斑贴试验	278
四、人体皮肤试用试验	279
第二节 皮肤变态反应和皮肤光毒性试验	280
一、豚鼠皮肤变态反应试验	280
二、小鼠致敏试验	283
三、皮肤光毒性试验	284
四、人体激发斑贴试验	286
第三节 皮肤接触性荨麻疹试验	287
一、非免疫接触性荨麻疹试验	287
二、免疫接触性荨麻疹试验	288
主要参考书目	291

第一章

毒理学实验基础

毒理学研究外源化学物等与机体的有害的交互作用。毒理学是一门实验科学，毒理学研究的主要手段是动物实验。体内试验是以实验动物为模型，最终目的是通过外源化学物对实验动物的毒性反应，向人（原型）外推，以期评估外源化学物对人的危害及危险性。体外实验主要用于筛选和预测急性毒性和机制研究；人体实验和流行病学调查可进一步深化和证实在动物实验中所得到的资料。实际上，毒理学作为一门实验科学是以动物实验为中心的，毒理学动物实验的设计、实施、结果观察和评价是毒理学研究的基本功。毒理学试验是对化学物安全性评价的主要手段，已被各国际组织或各国行政部门所颁布的规程或指南列为常规试验，又称为法规毒理学（regulatory toxicology）试验，这类毒理学试验是以筛查和描述外源化学物的毒性为目的，属于描述毒理学范畴。当受试物经法规毒理学的研究，确定其危害、剂量反应关系和靶器官后，应进一步研究其靶器官毒理学及其毒作用机制。

本章对毒理学实验的原则、基本目的、实验动物的选择和处置、剂量设计和对照、结果的处理等几个方面，做初步的介绍，为学习以后各章提供基础。

第一节 毒理学实验的原则和局限性

在描述毒理学的试验中，有 3 个基本的原则。

第一，化学物对实验动物产生的作用，可以外推于人。基本假设为：①人是最敏感的动物物种；②人和实验动物的生物学过程包括化学物的代谢，与体重（或体表面积）相关。这二个假设也是全部实验生物学和医学的前提。以单位体表面积计算对人产生毒作用的剂量和实验动物通常相近似。而以体重计算则人通常比实验动物敏感，差别可能达 10 倍。因此可以利用安全系数来计算人的相对安全剂量。已知人致癌物都对某种实验动物具有致癌性。实验动物致癌物是否都对人有致癌性，还不清楚，但此已作为动物致癌试验的基础。一般认为，如果某一化学物对几个物种实验动物的毒性是相同的，则人的反应也可能是相似的。

第二，实验动物必须暴露于高剂量，这是发现对人潜在危害的必需的和可靠的方法。此原则是根据质反应的概念，随剂量或暴露量增加，群体中效应发生率增加。毒理学试验中，一般要设3个或3个以上剂量组，以观察剂量-反应（效应）关系，确定受试化学物引起的毒效应及其毒性参数。毒性试验的设计并不是为了证明化学品的安全性，而是为了表征化学品可能产生的毒作用。仅仅检测受试化学物在人的暴露剂量是否引起毒效应是不够的，当引起毒效应的最低剂量（未观察到有害作用剂量，LOAEL）与人的暴露剂量接近时，说明该化学物不安全。当该剂量与人的暴露剂量有很大的距离（几十倍，几百倍或以上），才认为具有一定安全性，此距离越大，安全性越可靠。如果在研究中所用的一系列剂量不能引起毒性效应，则认为所用剂量还不足够高，应增加剂量，以确定受试化学品的毒性。但如果在试验的最高剂量组的剂量与人可能的暴露剂量有足够的安全界限，则对于安全性评价来说未观察到毒效应的研究是可以接受的。在毒理学试验中实验模型所需的动物数量总是远少于处于危险中的人群。为了在少量动物得到有统计学意义的可靠的结果，需要应用相对较高的剂量，以使效应发生的频率足以被检测。例如，低达0.01%的癌症发生率，这意味着在100万人群中会有100人发生癌症，此发生率太高，不能为公众接受。在实验动物直接检测如此低发生率将至少需要30000只动物。因此，别无选择，在毒理学试验中，对相对较少的实验动物必须以较高剂量进行试验，然后根据毒理学原则外推估计低剂量的危险性。

第三，成年的健康（雄性和雌性未孕）实验动物和人可能的暴露途径是基本的选择。成年的健康（雄性和雌性未孕）实验动物是为了使实验结果具有代表性和可重复性。以成年的健康（雄性和雌性未孕）实验动物作为一般人群的代表性实验模型，而将幼年 and 老年动物、妊娠的雌性动物、疾病状态作为特殊情况另作研究。这样可降低实验对象的多样性，减少实验误差。毒理学实验结果的敏感性取决于受试物处理引起毒效应强度和实验误差两个因素，处理引起的毒效应强，实验误差小，则实验结果的敏感性增加，反映受试物处理的真实效应，反之亦然。在下文所述的实验设计是要规定实验条件，严格控制可能影响毒效应的各种因素，实施质量保证，降低实验误差。只有这样，才能保证试验结果的准确性和可重现性。外源化学物从不同途径染毒实验动物所表现的毒性可有很大差异，这是由于因染毒部位解剖生理特点不同，外源化学物吸收进入血液的速度和量也不同，首先到达的器官和组织也不同。因此，毒理学试验中染毒途径的选择，应尽可能模拟人接触该受试物的方式。

历史上，环境污染物及某些药物所引起的中毒和死亡多次发生，引起各国的重视，推动了毒理学的发展，各国政府主管部门制订和多次修订了有关药品和各种化学品安全性评价的规范或准则，希望啮齿类和非啮齿类的毒理学研究能为有关候选新药和各种化学品提供安全性证据，但以动物的资料预测人的毒性的价值尚有待于研究。Lumley (1990) 和 Igarashi (1994) 根据有限的临床资料报告说：对人的毒性，约有一半尚不能由临床前（动物）毒性研究预测。Heywood (1983) 报告 27 个化学物（大多为药品）的靶器官毒性在大鼠和犬（或猴）之间的相符率仅 20%。Olson 等 (1998) 报告 131 种化学物对动物的毒性与人的毒性相符率，啮齿类为 6%，非啮齿类（犬和猴）为 28%，合并达 36%，所有的物种相符率可达 69%。按照目前的规

范,进行毒理学安全性评价,可以在一定程度上提高新药和各种化学品的使用安全性,但仍不能完全排除对人健康危害的风险。WHO在《临床前药物安全性实验原则》的文件中指出“虽然事先对生物活性物质进行了最仔细彻底的研究,但给人使用时总是不可避免地要冒一定的风险。”这就是利用动物实验的局限性,即动物实验的结果外推到人的不确定性。

用实验动物的毒理学试验资料外推到人群接触的安全性时,会有很大的不确定性,这是因为外源化学物的毒性作用受到许多因素的影响。首先,实验动物和人对外源化学物的反应敏感性不同,有时甚至存在质的差别。虽然在毒理学试验中通过用两种或两种以上的动物,并尽可能选择与人对毒物反应相似的动物,但要完全避免物种差异是不可能的。而且,实验动物不能述说涉及主观感觉的毒效应,如疼痛、腹胀、疲乏、头晕、眼花、耳鸣等,这些毒效应就难以或不可能发现。在动物实验中,可观察到体征(sign),而没有“症状”(symptom)。第二,在毒理学试验中,为了寻求毒作用的靶器官,并能在相对少量的动物上就能得到剂量-反应或剂量-效应关系,往往选用较大的染毒剂量,这一剂量通常要比人实际接触的剂量大得多。有些化学物在高剂量和低剂量的毒性作用规律并不一定一致,如大剂量下出现的反应有可能是由于化学物在体内超过了机体的代谢能力,这就存在高剂量向低剂量外推的不确定性。第三,毒理学试验所用动物数量有限,那些发生率很低的毒性反应,在少量动物中难以发现。而化学物一旦进入市场,接触人群往往会很大。这就存在小数量实验动物到大量人群外推的不确定性。第四,实验动物一般都是实验室培育的品系,一般选用成年健康动物,反应较单一,而接触人群可以是不同的人种、种族,而且包括年老体弱及患病的个体,在对外源化学物毒性反应的易感性上存在很大差异。以上这些都构成了从毒理学动物试验结果向人群安全性评价外推时的不确定因素。

第二节 毒理学毒性评价试验的基本目的

毒理学实验的常规部分是毒性评价或安全性评价试验。为了对受试物的毒性进行全面的测试,增强测试结果的可靠性,权威机构规定了评价程序,以保证毒性评价研究可以达到普遍能接受的最低要求和原则。由于受试物的多样性,试验程序应该有一定的灵活性。对毒理学试验的原理和设计思路的深入理解,有助于研究者对评价程序的实施,在发现新的现象或线索时,可设计新的实验来证实,并研究其机制。

毒性评价或安全性评价的基本目的包括以下几点:

1. 受试物毒作用的表现和性质 在急性和慢性毒性试验中,观察受试物对机体的有害作用,对有害作用的观察应该是对每个实验动物进行全面逐项的观察和记录。发现有害作用是进行剂量-反应(效应)研究的前提。

2. 剂量-反应(效应)研究 剂量-反应(效应)研究是毒性评价和安全性评价的基础。通过对不同有害作用的剂量-反应(效应)研究,可以得到该受试物的多种毒性参数和剂量-反应(效应)线的斜率。在急性(致死性)毒性试验中,应该得到 LD_{50} ,也可以得到 LD_{01} 和 LD_0 。在急性非致死性毒性试验中,应该得到急性观察到有害作用的最小剂量(LOAEL)和未观察到有害作用剂量(NOAEL)。在亚急性、亚慢性及慢性毒

性试验中, 应该得到相应的 LOAEL 和 NOAEL。在致突变、致癌和致畸等特殊毒性试验中, 剂量-反应(效应)研究将为确定受试物是否具有这些特殊毒性提供依据。在致畸试验中也可得到 LOAEL 和 NOAEL; 在致突变、致癌试验中, 尽管更为重视斜率的确定, 认为是无阈值的, 也可得到表现的 LOAEL 和 NOAEL。

3. 确定毒作用的靶器官 确定受试物有害作用的靶器官, 是毒理学研究的重要目的, 以阐明受试物毒作用的特点, 并为进一步的机制研究和毒性防治提供线索。

4. 确定损害的可逆性 一旦确认有害作用存在, 就应研究停止接触后该损害是否可逆和消失, 器官功能是否能恢复, 还是像化学致癌作用那样停止接触后损害继续发展? 毒性的可逆性关系到对人的危害评价, 如果器官损害可逆, 必要时(如药物)可能接受较高危险性的暴露水平。

当然, 毒理学研究还可能其他的目的和要求, 例如毒作用的敏感检测指标和生物学标志、毒作用机制研究、受试物的毒物动力学和代谢研究、中毒的解救措施等。对这些要求, 应扩展常规试验的设计以包括有关的项目, 或者另外设计和进行靶器官毒理学研究及机制毒理学研究。

第三节 动物实验的职业道德

实验动物(laboratory animal)包括所有脱离自然环境而用于研究、教学和试验的脊椎动物。要预防和治疗人类的疾病、要认识生命过程, 生物学实验是不可避免的。实验动物对医学的发展有不可忽视的贡献。所有的研究人员要尊重生命, 善待实验动物。

关于人类对待动物的伦理学争论, 由来已久。18 世纪哲学家 Jeremy Bethan 指出: “问题既不是它们能否思考, 也不是它们会不会说话, 而是它们痛苦不痛苦。”也出版了很多有关动物的伦理学的书籍和文章。19 世纪以来兴起了动物保护主义, 各国成立各种动物保护组织, 其中有一部分是主张绝对禁止动物实验的激进派。科学家和大多数民众则主张对动物实验加以规范, 通过立法保障动物福利。英国 1822 年通过了马丁法, 禁止虐待动物; 1876 年通过了《禁止虐待动物法》; 1986 年通过了《科学实验动物法》; 1873 年美国联邦法中有人道地对待动物的条文; 1966 年通过了《动物福利法》。我国《实验动物管理条例》规定“对实验动物必须爱护, 不得戏弄或虐待”。

对那些人为造成丧失独立生存能力的生物和那些用于研究、教学试验的实验动物, 我们都负有道义上的责任。使用有知觉动物作研究时, 其前提必须期望该研究对最终能使人类或动物的健康和福利得到改进的认识有重大的贡献。遵守下列原则: ①给予人道主义的管理和处理; ②使痛觉和不适感减少到最低限度; ③避免不必要的使用实验动物。合适的建筑设备固然重要, 但更重要的是管理体制和使用实验动物的各级人员的知识水平和对动物的关心程度。

应贯彻 3R 原则, 即替代(replacement)、减少(reduction)和优化(refinement)。此原则是由英国 William Russell 和 Rex Brursh (1959) 在《The Principles of Humane Experimental Technique》中提倡的。替代是指应用无知觉材料的科学方

法来代替使用活的有知觉脊椎动物的方法。减少是指在能保证获取一定数量与精确度的数据信息的前提下，减少动物的使用数量。优化是指在必须使用动物时，要尽量减少非人道程序的影响范围和程度。

人类对动物的道德，不仅是人类社会内部道德的自然延伸，更是人类区别于其他物种才会有的道德自觉。对野生动物和实验动物，人的爱护与关心，也是对人类自身价值与尊严的肯定，更是对人类生命意义的超越。

第四节 实验动物的选择和管理

毒理学的动物实验是以实验动物作为研究对象的，为获得可靠的研究结果，先决条件是正确地选用实验动物。

一、实验动物物种的选择

外源化学物的固有毒性往往在人和不同物种实验动物之间表现不同，物种差别可以表现在量的差别和质的差别。因此，需要对实验动物物种进行选择。一般认为，从动物实验结果外推到人，定性外推的可靠性高于定量外推，毒效学预测优于毒动学预测。

实验动物物种选择的基本原则是：在受试物代谢、生物化学和毒理学特征方面与人最接近；自然寿命不太长；易于饲养和实验操作；经济并易于获得。

在选择实验动物时存在固有的限制。可利用的物种不多，主要原因包括经济（购买和饲养的费用）、实验动物的寿命、行为和生活能力、处置，也许最重要的是对该物种“正常”生理和病理的资料，以及对所研究的毒性的敏感性。要利用对受试物在代谢、生物化学和毒理学特征与人最接近的物种，这就需要了解实验动物物种和人受试化学物的吸收、生物转化等资料，但这往往并不切合实际，因为首先需要进行一系列的比较研究，而对人体的资料在动物试验之前是很难得到的。

实际上没有一种实验动物完全符合上述物种选择的原则，目前常规选择物种的方式是利用两个物种，一种是啮齿类，另一种是非啮齿类。常用实验动物的生物学和生理学参数详见表 1-1。系统毒性研究最常用的啮齿类是大鼠和小鼠，非啮齿类是犬。豚鼠常用于皮肤刺激试验和致敏试验，兔常用于皮肤刺激试验和眼刺激试验。遗传毒理学试验多用小鼠，致癌试验常用大鼠和小鼠，致畸试验常用大鼠、小鼠和兔。迟发性神经毒性试验常用母鸡。一般假设，如以与人相同的接触方式、大致相同的剂量水平，在两个物种有毒性反应，则人有可能以相同的方式发生毒性反应。当不同物种的毒性反应有很大的差异时，必须研究外源化学物在不同物种的代谢、动力学及毒作用机制，然后才可将实验结果外推到人。

二、实验动物品系的选择

品系 (strain) 是实验动物学的专用名词，指用计划交配的方法，获得起源于共同祖先的一群动物。

实验动物按遗传学控制分类可分为：①近交系：指全同胞兄妹或亲子之间连续交配 20 代以上而培育的纯品系动物。如小鼠有津白 I、津白 II、615, DBA/1 和

DBA/2, BALB/C, C3H, C57B/6J, A 和 A/He 等。②杂交群动物(杂交1代, F1), 指两个不同的近交系之间有目的进行交配, 所产生的第一代动物。③封闭群: 一个种群在5年以上不从外部引进新血缘, 仅由同一品系的动物在固定场所随机交配繁殖的动物群。如昆明种小鼠、NIH小鼠、LACA小鼠、F344大鼠、Wistar大鼠, SD (Sprague-Dauley) 大鼠等。

根据实验动物遗传的均一性排序, 近交系最高、杂交群次之、封闭群较低。不同品系实验动物对外源化学物毒性反应有差别, 所以毒理学研究要选择适宜的品系, 对某种外源化学物毒理系列研究中应固定使用同一品系动物, 以求研究结果的稳定性。

遗传毒理学一般利用啮齿类动物, 主要是小鼠或大鼠。如果有合适的理由, 其他物种也可接受。在致癌试验中对大鼠和小鼠常选择有关病理损害的自发发生率低的品系。

表 1-1 常用实验动物生物学和生理学参数

参数	猴	犬	猫	兔	大鼠	小鼠	豚鼠	地鼠
成体体重 (kg)	3.5	14.0	3.3	3.7	0.45	0.035	0.43	0.12
寿命(年)	16	15	14	6	3	1.5	31	
水消耗 (ml/天)	450	350	320	300	35	6	145	30
饲料消耗 (成体, g/天)	150	400	100	180	10	5	12	10
成体代谢 (cal/kg/天)	158	80	80	110	130	600	100	250
体温(°C)	38.8	38.9	38.6	39.4	38.2	37.4	38.6	38.0
呼吸频率 (次/分)	50 (40~60)	20 (10~30)	25 (20~30)	53 (40~65)	85 (65~110)	160 (80~240)	90 (70~100)	83 (35~130)
心率(次/分)	200	100	120	200	328	600	300	450
血压(收缩/舒张, mmHg)	159/127	148/100	155/100	110/80	130/90	120/75	77/50	108/77
出生体重 (g)	500~700	1100~2200	125	100	5~6	1.5	75~100	2.0
断乳时体重(g)	4400	5800	3000	100~1500	40~50	10~12	250	35
开眼(天)	出生当天	8~12	8~12	10	10~12	11	出生当天	15
妊娠(天)	168	63	63	31	21	20	67	16
性周期(天)	28	22	15~28	15~16	4~5	4~5	16~19	4
动情期(天)	1~2	7~13	9~19	30	1	1	1	1
窝数量	1	3~6	1~6	1~13	6~9	1~12	1~5	1~12
断乳年龄 (周)	16~24	6	6~9	8	3~4	3	2	3~4

续表

参数	猴	犬	猫	兔	大鼠	小鼠	豚鼠	地鼠
生殖年龄 (月)	54	9	10	6~7	2~3	2	3	2
生殖期(年)	10~15	5~10	4	1~3	1	1	3	1
生殖季节	任何时间	春,秋	2~3个月, 冬季	任何 时间	任何 时间	任何 时间	任何 时间	任何 时间
所需面积 (ft ²)*	6	8	3	3	0.4	0.4	0.7	0.34
环境温度 (°C)	18~28	18~28	18~28	18~28	19~25	19~25	19~25	19~25
血容量 (ml/kg)	75	79	60	53	65	80	75	85
凝血时间 (秒)	90	180	120	300	60	14	60	143
HCT(%红 细胞)	42	45	40	42	46	41	42	50
Hb(g/ 100ml)	12.5	16.0	11.8	13.6	14.8	16.0	12.4	12.0

* 所需面积 (ft²), ft 为英尺, 1ft=30.48cm

三、对实验动物微生物和寄生虫控制的选择

(一) 实验动物微生物学等级分类

1. 普通级动物 (conventional animal, CVA) 不携带所规定的人兽共患病病原和动物烈性传染病的病原。

2. 清洁动物 (clean animal, CLA) 除普通动物应排除的病原外, 不携带对动物危害大和对科学研究干扰大的病原。

3. 无特定病原体动物 (specific pathogen free animal, SPF) 除清洁动物应排除的病原外, 不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原。

4. 无菌动物 (germ free animal, GFA) 无可检出的一切生命体。

(二) 实验动物寄生虫学等级分类

1. 普通级动物 不携带所规定的人兽共患寄生虫。

2. 清洁动物 除普通动物应排除的寄生虫外, 不携带对动物危害大和对科学研究干扰大的寄生虫。

3. 无特定病原体动物 除普通动物, 清洁动物应排除的寄生虫外, 不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的寄生虫。

4. 无菌动物 无可检出的一切生命体。

对各种实验动物的微生物和寄生虫等级分类见表 1-2。

(三) 环境条件分类及技术指标要求

1. 普通环境 该环境设施符合动物居住的基本要求, 不能完全控制传染因子,