

动物实验方法学

DONGWU SHIYAN FANGFAXUE

主编 孙敬方



人民卫生出版社

动物实验方法学

主 编：孙敬方

副主编：（按姓氏笔画为序）

邵义祥 邹振伟 金长顺 潘震寰 薛家宾 薛智谋

编 者：（按姓氏笔画为序）

马和祥	王志明	王禹斌	邓忠彬	田小芸	朱 明
朱顺星	庄 明	刘玉秀	孙敬方	陈 华	邵义祥
邵启祥	宋长年	严尚学	张晓平	邹振伟	周 坚
周慧英	周德荣	金长顺	胡玉红	恽时锋	陶 勇
高东冬	徐立新	徐宏彬	谈青芬	黄 猛	黄德武
曾 群	潘震寰	薛家宾	薛智谋	鞠小芸	

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

动物实验方法学/孙敬方主编. —北京:
人民卫生出版社, 2001
ISBN 7-117-04510-8

I. 动… II. 孙… III. 动物-实验-方法
IV. Q95-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 047924 号

动物实验方法学

主 编: 孙 敬 方

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京市卫顺印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 33.75

字 数: 785 千字

版 次: 2001 年 11 月第 1 版 2001 年 11 月第 1 版第 1 次印刷

印 数: 00 001—3 050

标准书号: ISBN 7-117-04510-8/R·4511

定 价: 57.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

我在南京大学医学院临床学院(南京军区南京总医院)医学动物实验中心工作期间,经常碰到一些研究人员询问有关动物实验方面的具体问题。诸如,怎样采集大鼠胰液,怎样选择器官移植中供、受体动物的品系,等等。由于相关的参考资料很难找到,这些问题常常令他们大伤脑筋,有时甚至还因此影响课题研究的进展。的确,实验动物学科在我国起步较晚,国内详细介绍动物实验技术方法的参考书籍极少。然而,我国生物医学在蓬勃发展,动物实验又成为医学研究与探索的主要手段。因此,十分有必要编写有关系统地介绍动物实验技术方法的材料。

正值我们着手实施这项计划之际,恰逢第十届江苏省院校实验动物工作研讨会召开,与会同仁也皆有共识。遂经大家推荐,由我组织众人,齐心协力,一鼓作气,前后利用近一年的时间,编著成此书。参加本书编写的作者几乎遍及江苏地区所有高等医药、农业院校和科研院所,包括南京大学医学院临床学院、中国药科大学、南京医科大学、南京中医药大学、苏州医学院、镇江医学院、南通医学院、徐州医学院、安徽医科大学、南京农业大学、江苏省农业科学院、中国医科院皮肤病研究所、江苏省药物研究所等。他们都工作在实验动物教学、科研第一线,具有长期的实际操作经验。应该说,本书的出版是江苏地区实验动物科学领域工作者集体智慧的结晶,也是近年来江苏实验动物科学不断发展的体现。

书稿完成后,承蒙张振兴等教授对全书进行认真审阅。感谢朱明、谈青芬等老师在编写过程中,协助完成资料整理、文字录入等繁杂工作。感谢江苏省科委、省实验动物管理委员会对本书出版给予的资助,特别感谢李樟云、朱宇、罗扬等领导对本书编写的始终关怀和支持。

为了准确、恰当地介绍内容,在编写过程中,我们除参考大量资料外,还尽量针对一些具体技术方法进行实际操作、仔细核对,惟恐有不当之处,但一定仍有许多错误。书稿定稿前夕,恰逢本人将赶赴美国哈佛医学院留学,时间十分匆忙,因此难免有些草率。祈请读者对不完善和不妥之处给予批评指正,以便再版时改正。

正值世纪交接之际完成此书,谨以此向新世纪的到来献一份贺礼,并祝福所有编者与读者在新世纪更加辉煌!

孙敬方

2001年5月18日于南京

目 录

绪论	1
一、从生物医学的发展历程看动物实验的重要性	1
二、动物实验技术发展史	5
三、动物实验研究的现状及发展趋势	8
第一章 有关实验动物的基本知识	15
第一节 实验动物的品种品系介绍	15
一、哺乳类实验动物	15
二、非哺乳类动物	33
第二节 实验动物的分类和培育方法	35
一、实验动物的遗传学分类和遗传群培育方法	35
二、实验动物的微生物学分类和无菌动物培育方法	39
第三节 实验动物主要脏器和腺体的位置与形态特征	45
一、主要脏器的位置与形态特征	45
二、主要腺体的位置与形态特征	64
三、主要骨骼的特征	78
四、某些特殊解剖构造与特征	80
第四节 实验动物常用生物学特性参数	82
第二章 影响动物实验结果的因素及其控制	92
第一节 动物实验中个体反应差异产生的原因	92
第二节 影响动物实验结果准确性的因素	93
一、环境因素	93
二、动物因素	99
第三节 动物实验结果影响因素的控制	103
一、遗传控制	103
二、疾病控制	105
三、环境控制	107
第三章 动物实验中实验动物的选择方法	110
第一节 选择实验动物的基本原则	110
第二节 常见动物实验中实验动物的选择	116
一、药理学研究中的选择	116
二、毒理学研究中的选择	118
三、心血管系统疾病研究中的选择	119

四、消化和呼吸系统疾病研究中的选择	121
五、神经系统疾病研究中的选择	122
六、泌尿和生殖系统疾病研究中的选择	123
七、抗炎与免疫试验研究中的选择	123
八、微循环试验研究中的选择	124
九、其他研究中的选择	125
第四章 动物实验观察室条件要求及实验者的自身保护措施	127
第一节 动物实验观察室条件与管理要求	127
一、动物实验观察室环境设施设备条件与要求	127
二、普通环境下动物实验观察与日常管理要求	135
三、屏障环境内动物实验观察与操作规范	137
四、隔离环境内动物实验观察与操作规范	139
五、简易隔离环境内的操作规范	144
六、动物手术室设施及管理要求	146
第二节 动物实验中实验者的自身保护措施	147
一、人兽共患病及其防护措施	147
二、损伤及其防护措施	149
三、特殊实验中的防护措施	150
四、P 实验室管理及操作规范	151
第五章 动物实验的基本技术方法	152
第一节 动物实验前的准备	152
一、动物实验前的理论准备	152
二、动物实验前的条件准备	153
三、预备实验	154
第二节 动物实验设计与分组	154
一、动物实验设计的基本原则	154
二、动物实验设计方法介绍	157
三、动物随机分组方法	158
第三节 实验动物的抓取与固定	159
一、哺乳类动物的抓取与固定方法	160
二、非哺乳类动物的抓取与固定方法	173
第四节 全价实验动物饲料日粮的配制方法	174
一、实验动物的营养需要	175
二、实验动物饲料配合技术	178
三、实验动物饲料配方举例	181
第五节 动物的性别鉴定与日龄判断	183
一、雌雄鉴别	183

二、日龄判断	185
第六节 动物的编号、标记及去毛方法	187
一、动物的编号与标记	187
二、实验动物被毛的去除方法	191
第七节 动物的麻醉方法	192
一、麻醉类型与麻醉方法	192
二、麻醉药物与麻醉剂用量	194
三、复苏与抢救	196
第八节 动物的给药途径与方法	197
一、啮齿类动物的给药途径和方法	197
二、兔、猫、犬的给药途径和方法	212
三、猴、猪及非哺乳类动物的给药途径和方法	224
第九节 动物血液的采集方法	227
一、大鼠、小鼠、地鼠、沙鼠等的血液采集方法	228
二、兔、豚鼠的血液采集方法	231
三、犬、猫、猪、羊、猴及禽鸟类的血液采集方法	233
四、血清与血浆制备及血标本保存	236
第十节 动物各种体液的采集方法	238
一、尿液、淋巴液、唾液、胃液的采集方法	238
二、胆汁、胰液、肠液的收集方法	244
三、脑脊液、脊髓、骨髓的采集方法	246
四、精液、阴道液、乳汁的采集方法	248
第十一节 常见观察指标的测定与检查方法	250
一、生理指标测定方法	250
二、生化指标测定方法	254
三、血液学指标测定与检查方法	260
四、免疫学指标测定方法	264
第十二节 受试动物的临床检查方法	266
一、一般检查内容及方法	266
二、系统检查内容及方法	268
三、动物脏器组织的活检方法	270
第十三节 动物的安乐死方法	271
一、颈椎脱臼法	271
二、空气栓塞法	272
三、放血法	272
四、断头法	272
五、药物法	273
第十四节 动物尸体剖检与送检方法	273
一、尸体剖检的物品准备和注意事项	273

二、尸体的外部检查方法	275
三、脏器采出与检查方法	276
四、病理材料的采集与送检方法	279
五、尸体剖检记录与剖检报告的书写方法	281
第六章 动物实验外科操作技术与常见手术方法	283
第一节 术前准备及术后处理	283
一、动物禁食与手术环境准备	283
二、常用动物外科手术器械介绍	283
三、常用手术设备和检测仪器介绍	288
四、常见动物外科手术的器械清单	294
五、器械、敷料的打包与消毒方法	297
六、动物麻醉与手术视野准备	298
七、手术后动物的护理	299
第二节 动物实验外科基本操作技术	299
一、组织切开、分离与止血	300
二、缝合、打结、拆线与换药	301
三、气管、尿道及血管内插管	306
第三节 常见动物实验外科手术方法	313
一、吻合术	313
二、切除术	320
第四节 动物器官移植技术介绍	330
一、单器官移植术	330
二、多器官联合移植术	351
第七章 药物研究的动物实验方法	356
第一节 药物试验剂型、剂量与样本数确定	356
一、受试物的剂型配制	356
二、给药途径与剂量	356
三、样本数确定	358
第二节 药物急性毒性观察的动物试验方法	359
一、试验要求	359
二、半数致死量的测定方法	361
三、测定 LD_{50} 应注意的几个问题	363
第三节 药物长期毒性观察的动物试验方法	364
一、试验要求	364
二、观察指标	366
三、指标检测时间与恢复期观察	367
第四节 药物生殖毒性观察的动物试验方法	367

一、试验准备	367
二、剂量设计与给药时间	368
三、观察指标	369
四、结果分析与评价	371
第五节 制剂常规安全性评价的动物试验方法	373
一、过敏性观察的动物试验方法	373
二、热原质观察的动物试验方法	375
三、异常毒性观察的动物试验方法	376
四、降压物质检查的动物试验方法	376
五、溶血性观察的动物试验方法	377
第八章 免疫研究的动物实验方法	379
第一节 动物免疫血清的制备方法	379
一、试验准备	379
二、免疫程序与效价测定	381
三、免疫血清的采集与提纯	381
第二节 小鼠单克隆抗体的制备方法	384
一、试验准备	384
二、免疫、融合与检测	387
三、冻存、生产与提纯	390
第三节 肿瘤组织移植入动物体内的方法	391
一、人体肿瘤组织移植入动物体内的方法	391
二、动物间肿瘤组织的移植方法	396
第四节 动物皮肤移植方法	398
一、背部皮肤移植方法	399
二、尾部皮肤移植方法	400
第九章 有关感染研究的动物实验方法	402
第一节 病毒增殖的动物接种方法	402
一、病毒增殖的鸡胚接种方法	402
二、动物感染病毒的接种方法	405
第二节 动物感染细菌和真菌的试验方法	406
一、动物感染细菌的试验方法	406
二、动物感染真菌的试验方法	411
第三节 动物感染寄生虫的试验方法	413
一、易感动物的选择	413
二、感染方法	413
第十章 有关生殖与胚胎研究的动物实验方法	422

第一节 动物发情、交配及妊娠检查方法	422
一、雌性动物排卵、发情与发情鉴定方法	422
二、雄性动物的精液采集与品质检查方法	426
三、动物交配的识别方法	430
四、妊娠检查方法	432
第二节 动物的去势、剖腹产和胎仔血管痿管装置技术	435
一、动物的去势方法	435
二、小鼠的剖腹产术	439
三、大鼠的剖腹产术	440
四、猪的剖腹产术	440
五、犬的剖腹产术	441
六、动物胎仔血管痿管装置术	442
第三节 动物胚胎移植、嵌合、核移植、转基因和克隆技术	443
一、动物胚胎移植技术	443
二、动物胚胎嵌合技术	452
三、动物生殖细胞核移植技术	453
四、动物转基因技术和克隆技术介绍	456
第十一章 人类疾病动物模型复制方法	459
第一节 人类疾病动物模型分类及设计原则	459
一、动物模型的分类	459
二、动物模型复制的设计原则	462
第二节 基本疾病病理过程动物模型复制方法	463
一、水和电解质、酸碱平衡紊乱及应激反应动物模型复制方法	463
二、水肿、发热、发热及凝血动物模型复制方法	464
三、缺氧、休克及实验性高血压动物模型复制方法	467
四、器官功能衰竭动物模型复制方法	469
第三节 几种系统疾病动物模型复制方法	473
一、消化系统疾病动物模型复制方法	473
二、内分泌系统及代谢疾病动物模型复制方法	477
三、皮肤疾病动物模型复制方法	481
第四节 中医证候研究动物模型复制方法	483
一、肾虚、脾虚及温病动物模型复制方法	483
二、阴虚、阳虚及血虚动物模型复制方法	488
三、痹证、寒证、热证及里实证动物模型复制方法	492
第十二章 动物实验数据的处理与分析	495
第一节 动物实验数据的收集整理和描述	495
一、实验数据的记录和贮存	495

二、实验数据的检查和分类·····	495
三、实验数据的分组·····	497
四、实验数据的统计描述·····	498
第二节 动物实验数据的分析·····	499
一、t 检验·····	499
二、F 检验·····	502
三、 χ^2 检验·····	506
四、统计分析中计算机的应用·····	509
第三节 动物实验报告与论文的撰写及注意事项·····	510
一、动物实验报告的撰写及注意事项·····	510
二、动物实验论文的撰写及注意事项·····	512
第十三章 动物实验研究的局限性及动物保护与替代问题·····	513
第一节 动物实验研究的局限性·····	513
一、动物实验研究有时是不全面的·····	513
二、动物实验有时是误导的·····	514
第二节 动物保护问题及人们的反应·····	515
一、国外动物保护运动的兴起及动物保护法规·····	515
二、动物实验与动物保护之间的争论及人们的反应·····	518
第三节 动物实验中提倡的“3Rs”概念·····	520
一、替代·····	521
二、减少·····	522
三、优化·····	523
第四节 进行动物实验应遵循的基本原则·····	525
一、动物实验应遵循的基本原则·····	525
二、确保遵循原则的措施·····	526

绪 论

一、从生物医学的发展历程看动物实验的重要性

自古以来，动物实验就是生物医学研究和教学的基本手段之一。生物医学的每一次重大发展与进步，几乎都与动物实验息息相关。动物实验也是现代生物医学研究的主要手段。现代医学各领域中许多最重要的进步都是以动物实验研究与探索为基础的。许多医学新知识的获得、医疗新方法的应用都得益于动物实验。当我们探索人类疾病的发病机制、寻求治疗途径时，往往要借助动物实验。评价所研制、生产的新药效果和安全性时，往往要借助动物实验。对新出现的疾病如何作出对策时，动物实验有时可起到关键性的作用。通过动物实验，人类在生物医学方面取得了许多巨大成就，这些成就对人类的文明与进步起到了重要的推动作用。

回顾生物医学发展的历史，可以说是一部动物实验探索史。

早在公元前4世纪至公元前3世纪的希腊，杰出的生物学奠基人 Aristotle 就运用解剖技术展示了各种动物的内在差别，这是西方最早关于动物实验的文献记载。在我国，史料记载，炎黄时代便有“神农尝百草之滋味，一日而遇七十毒”的描述。

古罗马时期，Galen 医生就曾通过对多种动物进行初步的活体解剖来推论人体的生理功能，对医学发展影响很大。他将动物实验工作喻为通向科学真理的一条漫长而艰辛的蹊径。并认为，不依据实验而妄断的论断，无助于科学的进步。

翻开公元1世纪前后我国的《神农本草经》，埃及的《埃伯斯医药籍》，以及15世纪李时珍的《本草纲目》，其中记载的大量药物和药方许多都是通过动物实验初步验证的。有记载，早在我国秦朝以前为寻求长生不老就出现了炼丹术。炼出的“灵丹妙药”在供宫廷君王使用之前，先灌给白兔服用，以观其毒性。

17世纪，英国医生 William Harvey 采用活体解剖的办法，在几种动物身上进行多次实验，阐明了血液循环的途径，指出了心脏是循环系统的中心。血液循环的发现，使生理学真正发展成为一门学科，也为实验药理学开创了新纪元。

19世纪，人们开始认识到仅仅用临床观察和尸体解剖的方法无法对疾病有全面深刻的认识，于是开始在动物身上复制人类疾病的模型，用动物实验方法来研究疾病发生的原因和条件，以及其发展过程中功能、代谢的动态变化，来进一步揭示疾病的各种临床表现和体内变化的内在联系，阐明疾病发生的机制和发展规律，从理性上认识疾病的本质。1865年，法国生理学家 Claude Bernard 曾指出：“……必须妥善地选择解剖构造合理或对某种影响具有特异敏感性的动物。每一项研究都必须明确指出所选择的动物，某个生理学或病理学问题能否解决，往往完全取决于为获得准确结果而用于实验的动物是否选择得当”。正是 Claude Bernard 首先倡导了以研究活体动物为主要对象研究各种疾病。开创了“实验医学”。所谓实验医学，主要就是现在所说的动物实验研究，即用动物代替人来做实验。当时，利用动物实验等进行研究的实验方法具有无比威力，开辟了

医学的黄金时代。

美国 John Call Dalton, 曾在巴黎 Claude Bernald 的实验室里学习过。Claude Bernald 的示教方法, 包括使用动物活体验证各种重要的生理学原理, 使他获得极为深刻的印象。他以后在纽约的内外科学院执教时, 也采用同样的示教方法。该学院在美国最早创办动物实验室, 培养了一代又一代的生物学和医学学生。1912 年, 当 Alexis Carrel 获得诺贝尔奖时, 在荣誉证书中有这样一句话: “……您……再一次证明了应用外科学是借鉴动物实验而发展起来的学科之一。”

英国外科医生 Joseph Lister 是抗菌术的创始人, 他应用石碳酸为外科手术器械、缝合和外伤敷料消毒, 以此防止感染。在他生活的年代, 活体动物实验经常受到公众的谴责。1875 年, 维多利亚女王邀请他回答皇家专门调查委员会对活体解剖的调查, 希望他发表一个声明, 来谴责这些“可怕行径”。作为一名贵格会教徒, Joseph Lister 公开表示反对维多利亚社会的许多残暴行为, 但他还是不能谴责活体解剖, 未能满足他的君王的请求。他在对调查委员会的证言中声称: 动物实验已是他自己在无菌研究方面必不可少的, 限制使用动物进行研究将会阻止有益于人类的一些发现。

19 世纪中叶, 医生们普遍都认为, 使人体质下降的疾病都是由于体内的紊乱引起的。但 Louis Pasteur 等人则认为是由外来的细菌或病毒等微生物感染诱发所致。为验证他的假说, Louis Pasteur 检查了患禽霍乱鸡的肠内容物。他分离出了一种可能致病微生物, 再放在培养基中培养, 然后把培养产物投入健康鸡和兔中, 结果产生了霍乱。这证明他已正确地鉴定出这种致病微生物。在对兔和豚鼠的类似研究中, 他还分离出了引起炭疽病的微生物, 然后开发出抗这种疾病的疫苗。用动物试验所获得的信息, 他不仅证明微生物能产生传染病, 而且证明免疫作用能防止这些疾病。很明显, 这些试验的实施永远不可能在人身上进行。Louis Pasteur 还研究了多种传染性疾病, 如蚕孢子虫病、狂犬病、绵羊炭疽病等。此外, 他还研究了一些动物疾病。他认为研究动物的疾病不仅对动物有利, 而且也有助于深入了解人类的疾病。

按照 Louis Pasteur 等人的研究思路, 人们先后确认了许多种传染性疾病, 并研制出了相应的预防疫苗, 包括白喉、破伤风、狂犬病、百日咳、结核、脊髓灰质炎、麻疹、流行性腮腺炎、风疹等。当然, 对这些疾病的研究不可避免地要依赖于动物实验。即先鉴定可能的微生物, 然后将之授予动物, 观察动物是否患所述的疾病。相似的研究方法一直持续到今天。如最近开发的 B 型流感嗜血杆菌(Hib)疫苗。这种病菌是软膜蛛网膜炎的一种主要病原, 可造成儿童死亡或严重脑损伤。早期的疫苗只能产生很弱的、短暂的免疫, 而利用兔和小鼠制备的一种新型疫苗可产生很强的免疫力。这种疫苗投入美国 and 英国, 使用两个月, Hib 的感染下降了 70%。

动物实验研究不仅导致诊断和防治传染病的新疫苗和新生物制剂的问世, 而且在抗生素药物的开发方面也起到了重要的推动作用。1935 年, 尽管有无菌的预防措施, 细小的伤口仍能导致严重感染, 以至手术中止或病人死亡。在欧洲和美国, 每 10 万次分娩有 200 次因发生产后脓毒病而造成的死亡(脓毒病是一种分娩后母亲受感染的疾病, 通常是由溶血性链球菌感染所致), 此外, 每 10 万个年龄在 45 岁至 64 岁的男人中有 60 人死于大叶性肺炎。当磺胺药物上市后, 这些数字急剧地下降: 到 1960 年, 每 10 万个母亲只有 5 个产后感染发生脓毒病, 每 10 万名中年男子只有 6 人死于大叶性肺炎。

引入磺胺药物的背景情况是耐人寻味的。研究这些化合物的德国 Gerhard Domagk 小组坚持把所有的候选药物都在感染的小鼠中进行筛选(即所谓的鼠保护试验),而不是在琼脂平板上生长的细菌进行筛选。Domagk 的敏锐判断是十分幸运的。他们发现候选药物百浪多息在小鼠体内试验中抗菌效果极为有效,但它对体外培养的细菌却无效(因为活性抗菌物质磺胺是在体内由百浪多息形成的)。由于 Domagk 对抗菌药物的研究,他于 1939 年获得诺贝尔奖。

相反,缺乏适当的动物试验研究,令人遗憾地使青霉素的应用推迟了十年。Alexander 在 1929 年的研究中没有用小鼠来检测他的含粗青霉素的培养物之效果(虽然他的确也指出这种培养物对小鼠和兔没有毒性)。直至 1940 年,牛津大学的 Howard W. Florey、Ernst B. Chain 等最终通过鼠保护试验表明青霉素是一种有奇迹般效应的抗生素。之后,青霉素才得以广泛应用。

早期的研究者,如 Willam Harvey 和 Louis Pasteur 等,也并不是一开始就有意选择动物试验作为研究手段的。起初,他们凭借那时所有可用的技术来解决问题:有时解剖尸体;有时观察患者;有时检查培养的细菌。但是,通过比较以后,最终认为进行动物试验是必要的。

其实,实验动物和人类之间在生理学上没有本质差异。两者都通过释放实质上相同的内分泌激素来控制它们内部的一系列生物反应过程,都从中枢神经系统 and 外周神经系统的神经细胞发出相似的化学传递介质,都是以相同的方式对感染或组织损伤起反应的。

在许多其他医学领域中,动物实验研究也是极其重要的。我们知道,心脏外科手术现在已成为常规手术。据估计,这种手术仅在美国每年就拯救达 44 万人的生命。但该手术方法的问世和完善,应归功于费城杰斐逊医学院的 John Gibbon 等科学家经 20 多年的动物试验研究。治疗二尖瓣缺损引起的二尖瓣功能不全心脏病也是得益于多年的动物试验研究取得进步的。修复二尖瓣的人造替代瓣膜是人们多年对犬和犊牛的有效性试验才研制成功。对心脏进行分流的心肺机的研制也是对犬进行了 20 多年试验之后才逐步完善的。

现在的肾透析乃至肾脏移植能够拯救包括中毒、严重出血、高血压或糖尿病等多种疾病所造成的肾衰竭患者的生命。美国每年大约有 20 万人需要作肾透析,约 1.1 万人接受新的肾脏。但是,肾衰竭治疗方法的开发也是依赖动物试验一步一步地改进的。而且,透析中必须使用的一种药物——肝素,也是从动物组织中提取并用动物作安全试验的。

肾脏或任何主要器官的移植呈现出许多并发症,正是通过动物实验研究才帮助解决这些问题的。将受体血管缝合到供体器官上时,如何保证这些血管有足以抵抗动脉血压的强度,其技术上的突破是通过大量对猫的大量试验才解决的。避免器官移植的排斥反应所采用的抑制免疫系统方法是人们通过对兔、啮齿动物、犬和猴等许多动物进行反复研究而完善的。

在引入胰岛素之前,糖尿病患者一般死于该疾病。50 多年来,拯救生命的胰岛素主要是从牛或猪的胰脏中提取。而且批量生产的胰岛素也都是通过兔或小鼠来进行效果试验和安全评价,然后才在人体上使用的。

高血压以往是一种令医生们十分头痛的疾病，一般确诊后可能一年内便死亡。从50年代起，人们通过对猫等动物的研究已研制出一系列逐步完善的抗高血压药物。目前，临床上用于高血压的药物治疗的药物已是十分有效而安全的。

胃溃疡治疗过去必须采取外科手术，但术后易复发。后来人们通过对大鼠和犬的试验研究开发的抗溃疡药物已能够有效地控制这种疾病。如果与抗生素合用以消除幽门螺旋杆菌的感染，则可能根治此病。

生命科学中的一项革命性成就——淋巴细胞杂交瘤技术，也正是利用对近交系小鼠的研究才得以问世。淋巴细胞杂交瘤技术需要骨髓瘤细胞系，而骨髓瘤细胞系最早是在BALB/c小鼠中发现的。单克隆抗体也是通过BALB/c小鼠来制备的。该技术的创始人之一 Milein 曾指出，如果在理论上没有克隆选择学说，在技术上没有细胞融合和培养方法，在材料上没有实验性骨髓瘤和体外培养的骨髓瘤细胞，就不可能出现单克隆抗体。这充分说明了骨髓瘤细胞系和实验动物在淋巴细胞杂交瘤技术中的重要作用。

生物医学发展中还有许多新的发现和新技术方法的应用是通过动物实验探索或对动物的研究而获得的。1665年，Wren成功地用羽管对犬施行静脉注射，Lower成功地用犬进行了输血，为后来人体静脉注射与输血提供了依据。1792年，Jenner发现牛痘可以保护人不生天花，这是世界上第一个疫苗。人类第一个证实的细菌病是炭疽病(牛、羊，1878)。第一个放线菌病是在牛体发现的(1877)，第二年才在人体分离到此病原。最早发现的病毒病是犬的狂犬病(1885)和牛羊口蹄疫(1897)。最早发现的原虫病是骆驼的苏拉病(1880)，不久又发现鸟的疟原虫，然后才发现人的原虫病。虫媒病也是先在动物中发现的(牛的德克萨斯热，1893)，以后才知道疟疾、黄热病、斑疹伤寒都是昆虫传播的。现在谈虎色变的慢病毒(包括艾滋病毒在内)，最初也是在绵羊的痒病中发现的，后来才在库鲁病人中分离到。各类疫苗无不是先通过动物实验在动物中研制成功，尔后移用到人的。最早的死毒疫苗的鼻祖是猪瘟疫疫苗，弱毒疫苗则是禽霍乱疫苗，最早的寄生虫病疫苗是牛的网尾线虫疫苗，最早的肿瘤疫苗是鸡的马立克病疫苗。

尽管目前疫苗和抗菌治疗方法取得了许多成功，但传染病对全人类的生命仍然是最大的威胁，如尚无对付疟疾和艾滋病的有效疫苗。医生们还要面对不断出现的抗药性的菌株和一些新的传染病。很难设想，如果没有动物试验，怎么能开发出新的、更好的抵御传染病的疫苗和药物？

我们知道，临床资料分析以及为找出存在问题而开展的调查研究，固然对疾病发病机制探讨和诊治有十分重要的意义。但是，科学研究只停留在调查分析上是很难推动科学进步的，因为许多复杂的环境因素影响调查结果，往往难以得出十分准确的科学结论。动物实验是在极力控制影响因素下进行的观察，实验结果准确性强。因此，对重大研究课题(包括肿瘤、白血病、高血压、脑溢血、心脏病、糖尿病、肾病、老年病、寿命、遗传本质以及各种疑难病等)，必须要进行动物实验。

动物实验已成为人类征服自然、保护自己的重要手段之一。通过动物实验，人类在不断探索防御疾病的一切可能途径。通过一项项动物实验，一个个生物与人体秘密被揭开，一种种疾病的病因和转归被弄清，防治办法被找到。但当我们在生物医学方面取得巨大进展的时候，应记住：各种实验动物对人类的贡献是功不可没的，每一项有价值的动物实验研究，均应永载科学发展史册。

二、动物实验技术发展史

纵观动物实验技术发展的历史，可分为四个时期：

1. 公元前4世纪至公元3世纪 活体动物解剖是这一时期动物实验技术发展的显著特征。

公元前4世纪，Aristotle 首先开展了多种动物的解剖，但都是在死亡的动物和人的尸体上施行的。Erasistratus 可能是进行活体动物实验的创始人，他在猪体内确定了气管是吐纳空气的通道，肺是呼吸空气的器官。之后，Galen 对猪、猴及其他多种动物都施行了活体解剖检查，以此推论人体的生理功能。

2. 公元3世纪至16世纪初 动物实验技术的发展在这一时期几乎停滞。

从Galen之后，直至16世纪初，科学发展延续了若干世纪的黑暗年代，特别是中世纪，科学研究被教条主义所取代。动物实验技术的发展受到的影响尤为严重。当时即使是对死亡的动物和人的尸体施行解剖，也都被基督教会所禁止。他们阻止人们获取有关认识世界的知识，否则就被认为是亵渎神明的行为。

3. 16世纪初至19世纪末 这一时期是动物实验技术发展方法的辉煌时期。

16世纪初，人们的科学意识再度觉醒。现代解剖学的奠基人 Andreas Vesalis 利用犬和猪进行了公开的解剖学示范教学。这种“活体解剖实验”阐明了解剖学与生理学的一致性，导致了一系列飞跃。

1628年，英国 William Harvey 发表了有关动物心脏与血液运动的巨著《人与血的运动》，他通过对活体蛙、犬、蛇、鱼、蟹等动物进行了大量解剖与生理研究，发现血液循环是一个闭锁系统，并阐明了心脏在动物体内血液循环中的作用。

17~18世纪，显微镜的发明和物理学、化学迅速发展，为动物实验技术的发展提供了良好的条件。

18世纪初期，英国 Stephen Hales 首次报告了一匹14岁左右的母马的血压测定结果。18世纪中期，意大利 F. Fontana 通过动物实验对千余种药物进行了毒性测试，得出了天然药物都有其活性成分，选择作用于机体某个部位而引起典型反应的客观结论，开创了药理学实验研究的先河。

19世纪，门捷列夫的元素周期表问世。随着新元素一个个被发现，化学等其他自然科学迅速发展，动物实验研究也大量开展。人类因此积累了大量人体各器官生理功能的知识，从而导致了实验医学的兴起。实验医学的出现是19世纪自然科学发展的一大标志，也成为生物医学发展的转折点。此时，法国已成为实验生物学和实验医学的中心。一批科学家，例如，Francois Magendie 和 Claude Bernald 在实验生理学方面，Louis Pasteur 在微生物学方面，通过动物实验等科学方法的验证，作出了不可估量的贡献。

在19世纪，生物医学方面有许多因动物实验研究而获得重大进步的事例。例如，英国 Charles Darwin 通过大量调查研究，包括一系列动物试验，于1859年发表进化理论《物种起源》，为利用动物了解人类提供了科学的依据。德国 Robert Koch 通过对牛、羊疾病的研究，于1878年发现了结核杆菌，指出了细菌与疾病的关系。法国 Louis Pasteur 通过研究家禽霍乱病，于1880年首先制造出禽霍乱疫苗，1885年开发了狂犬病疫苗，

开辟了传染与免疫新途径。之后，他又发现了破伤风抗毒素，并于1891年开始生产白喉抗毒素(从马血清制备)。德国细菌学家 Friedrich Loffer 等以豚鼠等动物研究白喉杆菌，于19世纪末发现造成动物死亡的原因不是细菌本身，而是细菌的毒素，这一发现导致了预防白喉的免疫疗法，从而开始了抗毒素治疗的新时代。德国医生 Baron Joseph Von Mering 和俄国医生 Oscar kowsk 在以切除胰腺的犬进行胰腺消化功能的研究时，偶然发现犬的尿招来成群的苍蝇，证明了切除胰腺犬的尿糖增加，从而认识了糖尿病的本质，并从犬胰腺中分离出胰岛素，有效地用于糖尿病的治疗。俄国的生理学家巴甫洛夫致力于用犬研究消化生理和高级神经活动，于19世纪末，提出了条件反射的概念，开创了高级神经活动生理的研究新领域。

然而，这一时期，尽管人们在生理学和细菌学的探索方面取得了若干成就，但在科学研究中使用动物也开始遭受指责。19世纪早期，英格兰首先成立了一个“防止虐待动物协会”(Society for the Prevention of Cruelty to Animals, SPCA)。19世纪60年代，美国在纽约、费城和马萨诸塞也分别建立了防止虐待动物协会组织。这些协会的宗旨之一，就是反对在科学研究中使用动物。特别是由于达尔文进化论在生物方面的发现，使许多人认为，动物与人类之间没有多少“差异”。由于动物保护者的反对，这一时期动物实验技术发展也受到一定程度的限制。

4. 20世纪初至今 20世纪初，孟德尔遗传学定律发现以后，动物实验技术的发展进入了突飞猛进的时期。

1907年，C.C. little 在 W.E. Casetle 指导下建立了世界上第一株近交系动物-DBA 小鼠。之后，实验动物近交系育种工作为遗传学、肿瘤学、免疫学等方面的动物实验研究提供了大量的动物模型材料。近交系动物的广泛应用成为这一时期动物实验技术发展的标志之一。

1928年 J.A. Reyniers 和 1930年 B. Gustafsson 研制成功两种类型金属隔离器，无菌隔离技术取得了初步突破，微生物学等动物实验研究得到了可靠的保障。

1946年，美国 Lobund 实验室 Reyniers 等人育成无菌大鼠等，使无菌动物的基本技术和理论得以初步建立。但此时，动物实验技术还只局限于无菌概念、无菌操作技能和普通动物的实验研究等初期发展阶段。

1957年，Trexler 在金属隔离器的基础上创制了塑料薄膜隔离器改进了无菌技术，推动了无菌动物工作的发展。之后，无菌兔、猫、犬、猪、羊、牛、驴、猴等动物相继培育成功，许多以往难以进行的研究得以迎刃而解。无菌技术的广泛应用是这一时期动物实验技术发展的又一标志之一。

1959年，Reyniers 主编出版了《无菌脊椎动物现状》专著，使无菌动物的概念和特征更趋明确。此时，在动物实验中使用不同微生物等级的实验动物(无菌动物、悉生动物、无特定病原体动物、普通动物)的理论基础与实践依据明确确立。之后，随着大型 Vickers 塑料薄膜隔离器的制备和运用，特制罐装灭菌饲料和利用放射线灭菌饲料的问世，以及过氧乙酸空间消毒、剖腹取胎与人工乳饲养等技术的出现与发展，动物实验的无菌条件与措施日臻完善。在动物实验饲养观察环境方面逐步形成了隔离环境、屏障环境、半屏障环境、普通环境等标准规范设施。

60年代以来，在工业和有关科学技术迅速发展的基础上，实验动物具备了大量生