

## 动物模型构建方法

常用的疾病动物模型包括：

### 肿瘤成瘤模型

包含皮下成瘤和原位成瘤，以 Hep-G2 细胞裸鼠成瘤为例，实验步骤和方法：

#### 培养肿瘤细胞（Hep-G2 细胞）

一般选择对数生长期肿瘤细胞进行移植，肿瘤细胞消化后需尽快接种到裸鼠皮下，取出裸鼠期间可将细胞悬液放置到水冰混合物上。

#### 细胞接种量

如果不好确定该肿瘤细胞接种量，可查找相关文献参考。皮下荷瘤细胞数量/体积可  $1-5 \times 10^6 / 0.1 \text{ ml}$  / 注射点的范围内选择。注射体积  $100 \mu\text{L}$  或  $200 \mu\text{L}$  均可，超过  $200 \mu\text{L}$  可能会漏液。

#### 裸鼠的选择

裸鼠一般选择 4-8 周龄，体重 18-20 g 左右，同批实验鼠要保证个体差异小，同时根据实验需求选择裸鼠性别。

#### 裸鼠固定和麻醉

根据裸鼠体重腹腔注射麻醉药物，待进入安静状态后，将其仰卧固定；

#### 肿瘤细胞接种

根据皮下成瘤或原位成瘤选择注射部位，注射完成后缓慢退针，用 PBS 棉球止血。

**注：**皮下种植部位选择供血丰富区域，如腋窝中后部、腹股沟中上部等。

#### 继续培养

手术裸鼠放归培养前需给予抗生素注射，同时做好伤口消毒。放归培养后注意观察裸鼠状态，避免手术刺激、目的组织损失、感染等造成的死亡。

#### 处死裸鼠

颈椎离断，处死小鼠，解剖尸体，观察目标组织肿瘤生长状况，周围其他器官是否有转移瘤形成。所有可疑组织均做好标记，拍照，若有表面结节，计数后，冻于液氮中。根据结果情况用 10% 甲醛溶液固定过夜后做病理。

也可处死动物后取出目标组织，福尔马林中低温（ $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ ）保持待测。

## 心血管疾病模型

包括大鼠继续心肌梗塞模型、高血压模型和兔动脉粥样硬化模型，其中急性心肌梗塞死模型，主要通过手术方法结扎大鼠冠状动脉左前降支造成左心室部分梗死达到模拟人的急性心梗疾病状态，高血压模型可通过药物、手术方法或遗传性高血压模型获取，兔动脉粥样硬化模型可通过食物干预的方法建模。

## 消化系统疾病模型

### 脂肪肝模型

通过食物干预方法完成，建模时间较长约 8 周，但模拟人疾病效果更优。

### 肝纤维化和肝硬化模型

主要通过药物诱导，建模时间约 9 周。

### 肝炎模型

常用注射乙型肝炎病毒或药物介导。

### 胃肠道溃疡模型

- 1) 强烈伤害性刺激法，包括强迫制动、饥饿或寒冷等；
- 2) 药物法，包括注射或服用组织胺、胃泌素、肾上腺类固醇、水杨酸盐、血清素、利血平、保泰松等；
- 3) 烧灼法，用电极烧灼胃底部的胃壁，可造成象人的胃溃疡病变；用浓醋酸给大鼠胃壁内注射或涂抹于胃壁浆膜面上可造成慢性溃疡；此法简便，且可选择溃疡部位；
- 4) 结乳幽门法（简略步骤）：
  - ① 选取模型动物后麻醉，方法可参见“肿瘤成瘤模型”中选取动物和麻醉方法；
  - ② 无菌下切开腹部，暴露胃部，沿胃向右，辨清幽门和十二指肠的联结处，避开血管，于其下穿线，将幽门完全结扎；
  - ③ 关闭腹部，缝合和常规给予抗生素，方法可参见“肿瘤成瘤模型”中术后处理；
- 5) 其他可用外科手术方法从肠道上部排除可中和胃酸的碱性胆汁、胰液或十二指肠液造成溃疡。还可用刺激、损伤或毁损脑组织等方法造成溃疡。

## 内分泌疾病模型

### 甲状腺疾病动物模型

- 1) 药物诱发甲状腺肿，包括丙基硫氧嘧啶（腹腔注射 1 mg/100 g）、他巴唑（饮用 0.5 mg% 他巴唑水溶液）、高氯酸钠（饮用 8 g/L 高氯酸钠水溶液）；
- 2) 通过食物干预方法完成甲状腺肿模型；
- 3) 饮食干预诱导甲状腺功能减退，即在确定妊娠后给予 0.2 % 甲基硫氧嘧啶饲料喂养；
- 4) 手术干预甲状腺功能减退，即在妊娠 107 天内切除甲状腺；

- 5) 药物诱发甲状腺功能亢进，即连续给予 L-三碘甲状腺原氨酸和甲状腺激素注射，并饮用含甲状腺激素的水溶液；

### 糖尿病动物模型

- 1) 药物诱发I型糖尿病模型，包括链脲佐菌素（STZ）、四氧嘧啶等，以 STZ 为例：
  - ① STZ 可在大鼠、小鼠、犬、猴等动物引起糖尿病，常用大鼠和小鼠；
  - ② 大鼠禁食 12-16 hrs，按照 50 mg/kg 单次腹腔注射，对照组动物注射同等量生理盐水或柠檬酸盐缓冲液；
  - ③ 注射 1 周后，检测血糖水平，大于等于 16.67 mmol/L 者即建模成功。

**注：**四氧嘧啶可选取静脉注射或腹腔注射的方式给予，但豚鼠对四氧嘧啶具有抵抗作用；
- 2) 自发性I型糖尿病模型，包括 BB Wistar 大鼠（远交系）、NOD 小鼠等；
- 3) II型糖尿病模型建立，包括 STZ 注射加高脂高糖饮食干预模型、多次 STZ 给予模型；
- 4) 自发性II型糖尿病模型，包括 NSY、kk、ob/ob、db/db、OLETF 等；
- 5) 其他方法有胰腺切除、给予激素、损失下丘脑、给予病毒等。

### 胰岛素抵抗动物模型

- 1) 遗传性模型，包括 Zucker 肥胖大鼠、Wistar 肥胖大鼠、ob/ob、db/db、OLETF 大鼠等；
- 2) 饮食干预模型建立；
- 3) 多次、小剂量给予 STZ 复制II型糖尿病模型，100 %存在胰岛素抵抗；
- 4) 谷氨酸钠也可诱导肥胖性胰岛素抵抗模型。

### 骨骼疾病动物模型

#### 机械性股骨头坏死模型

以狗为试验对象，

- 1) 通过肌肉注射麻醉剂行全身麻醉；
- 2) 以双侧股骨大转子为中心，局部剪毛，备皮，络合碘消毒；
- 3) 取髋关节后外侧切口，逐层切开皮肤、皮下及阔筋膜，钝性分离外旋诸肌，活动狗的下肢，确定股骨头位置，切开关节囊，暴露股骨头，在股骨头后外侧软骨面近头颈交界处，用直径 8 mm 的环钻向股骨头中心方向钻孔，深度达 10 mm,造成股骨头的骨缺损
- 4) 用蘸有无水乙醇的棉签涂抹骨缺损周壁，同时将环钻取出的圆柱体自体骨放入无水乙醇中灭活，5 min 后将灭活后的自体骨按原位置放置回植；
- 5) 逐层缝合关闭窗口，消毒皮肤切口。

#### 药物性股骨头坏死模型

实验组肌肉注射脂多糖 10 μg/kg，然后连续 3 天肌肉注射甲强龙 20 mg/kg；对照组肌肉注射等量的生理盐水。

### 骨关节炎模型

以日本大耳白兔为实验动物，将其用固定盒固定后，兔毛剪短至 0.5 cm 左右，将兔右腿于腹股沟以下 1.5 cm 至裸关节下 3 cm，石膏管型固定于拉伸位；

待石膏干硬后，在放回兔笼，自由活动与进食从造模当天起计算，并密切观察，一旦发现有肢端明显肿胀、张力性水疱或溃烂感染及石膏松脱、咬损严重等现象，则立即卸掉重打；

### 类风湿关节炎模型

以弗氏佐剂、II型胶原混合完全弗氏佐剂注射的方法，给予目标动物关节，建立模型。

### 神经系统疾病模型

包括抑郁、惊厥、镇静催眠抗焦虑、疼痛、痴呆模型和癫痫等动物模型，常用药物注射、外部强烈刺激、机械损伤和手术方式建模。如癫痫模型可通过注射合成红藻氨酸、氯化锂-匹罗卡品等建立；抑郁模型可通过长时间给予温和应急刺激，或短时间强烈外部刺激建立。