研究报告

北京市大鼠、小鼠、豚鼠的病理学调查

付永瑶[1], 吕 悦[2], 王继宏[2], 姚 皓[2], 赵文杰[2], 宋志琦[2],
薛志新[2], 袁 振[2], 刘春法[2], 彭 云[2], 李 超[2], 赵德明[2], 杨利峰

(中国农业大学动物医学院/国家动物海绵状脑病实验室,北京 100193)

【摘要】 **目的** 实验动物的健康状况对科学研究的发展有重要的影响,为了保证实验用鼠的健康质量,自从2009 年起本实验室对北京市多家实验动物单位的实验用鼠进行了病理学抽检, 从病理学的角度来调查北京市部分实验鼠的主要脏器的情况。**方法** 我们主要对实验鼠的心、肝、脾、肺、肾、大肠和小肠进行取材,通过甲醛固定,石蜡切片 HE 染色、冰冻切片油红"O"染色、PAS 染色等方法对实验用鼠进行病理学分析。**结果** 根据病理学的调查结果,部分实验动物在以肝脏和肾脏为代表的器官中出现了不同程度的病变。**结论** 结合对实验鼠的微生物学检测,分析认为,北京市的啮齿类实验动物中几乎无细菌、病毒和寄生虫等病原微生物的阳性感染个体,对人、动物及周围环境无明显危害;但是少部分实验鼠在临床上出现一定程度的病理学异常。

【关键词】 啮齿类实验用鼠; 病理学诊断;脂肪变性; 油红"O"染色; PAS 染色
【中图分类号】R332 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2014) 07-0054-03
doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2014. 007. 011

Pathologic investigation of rats、mice and cavies in Beijing

FU Yong-yao[1], LV Yue[2], WANG Ji-hong[2], YAO Hao[2], ZAO Wen-jie[2], XUE Zhi-xin[2],
YUAN Zhen[2], LIU Chun-fa[2], PENG Yun[2], LI Chao[2], ZAO De-ming[2], YANG Li-feng
(Veterinary Medicine, China Agricultural University / National Animal TSE Laboratory, Beijing 100193, China)

【**Abstract**】 **Objective** To insure the health of experiment mice, since 2009 our lab tool laboratory rodents from Beijing area to investigate the health status of laboratory rodents. We mainly use the pathologic method to investigate experiment mice. **Methods** The specimens we took from the experimental animals were mainly hearts, livers, spleens, lungs, kidneys, small intestines and large intestines. Specimens were immediately fixed by formalin. HE staining sections, PAS staining sections, oil red "O" staining frozen sections were observed under light microscope. **Results** According to the pathological examination there are different degree of pathological changes among the organs of laboratory rodents, such as hepatic and kidney. **Conclusion** Combined with the result of microbial detection, the laboratory rodents are not infectious with Pathogenic microorganism, such as bacteria, virus and parasite. And they have no harm to human beings, other animals and the surrounding environment. But small parts of laboratory rodents show certain extents pathological anomaly in clinically.

【**Key words**】 Experimental mice;Pathological diagnosis;Hepatic steatosis;Oil red "O" staining;PAS staining

随着现代科学技术的发展,实验动物广泛应用 于生命科学研究中,成为生命科学研究的支撑条件

[**基金项目**]国家科技支撑计划(2011BAI15B01)。
[**作者简介**]付永瑶,硕士生,女,主要从事分子病理学的研究,Email: fyyabu@126. com。
[**通讯作者**]杨利峰,副教授,主要从事动物病理学及 Prion 疾病致病机制研究,Email:yanglf@ cau. edu. cn。

之一。实验动物尤其是实验鼠是人类的替身,起着“活的天秤”和“活的化学试剂”的作用,实验用鼠的质量直接影响科学实验结果的可靠性和准确性[1]。因此,实验用鼠不仅应该满足传染病学的检测标准,也应该符合病理学的检测要求。本文主要对至 2009 年至 2013 年,北京市实验用鼠的病理学抽检诊断结果进行统计和分析。病理学诊断是通过直接观察器官、组织和细胞的病理特征对疾病做出诊断,是医学诊断中具有权威性的一级诊断,是联系基础医学和临床医学的重要桥梁。较临床上的其它诊断,如根据病史、症状和体征等作出的分析性诊断更具直观性、客观性和准确性[2]。

1. 材料和方法

1.1 实验动物

2009 年至 2013 年,由中国药品生物制品检定所在北京市不同实验动物饲养单位分别抽取小鼠、豚鼠和大鼠三种实验用鼠,均为 4 ~ 6 周龄(表 1)。

1.2 实验方法

1.2.1 组织切片的制备和观察

将动物麻醉后处死,采集动物的心脏、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、小肠和大肠, 10% 福尔马林溶液固定。按照常规方法制作石蜡切片, HE 染色, OLYMPAS U-S R G 数码显微镜观察并采图。

1.2.2 肝脏油红“O”染色

对于在 HE 染色下观察疑似为脂肪变性的样品肝脏,抽取部分进行脂肪的油红“O”染色,具体步骤如下:

1)取 10% 福尔马林溶液固定的肝脏组织,用水冲洗 1 h;

2)组织块冰冻切片;

3)将油红“O”稀释液滴加在载玻片上覆盖组织,染色 8 ~ 10 min;

4)60% 异丙醇液漂洗 30 s,然后蒸馏水再漂洗 30 s;

5)苏木素复染 30 s,之后蒸馏水洗 30 s;

6)用甘油明胶封片。

切片用 OLYMPAS U-S R G 数码显微镜观察并采图。

1.2.3 肝脏 PAS 染色

同样抽取 HE 染色病变阳性的样品肝脏,做糖原的 PAS 染色,具体步骤如下:

1)10% 福尔马林溶液固定的组织制作石蜡块,切片脱蜡下行至蒸馏水;

2)入 0.5% 高碘酸水液氧化 5 min,蒸馏水水洗;

3)Schiff 氏试剂染色 30 ~ 60 min(在 37℃的温箱中进行,瓶盖密封);

4)亚硫酸液洗 2 ~ 3 次,每次 30 s,然后蒸馏水水洗两次;

5)苏木素复染 5 min,1% 盐酸酒精分色,充分水洗;

6)脱水透明,封片。

切片用 OLYMPAS U-S R G 数码显微镜观察并采图。

2 结果

2.1 实验鼠的肝脏病理学变化及统计

HE 染色切片显微镜观察,正常肝脏肝细胞排列紧密,肝索结构清晰,肝细胞胞质红染,胞核清晰蓝染(封 3 图 1)。小鼠、大鼠和豚鼠的肝脏病变主要表现为肝细胞肿胀变大,胞浆中存在大小不等的空泡,有些空泡融合成大的空泡,胞浆成分明显减少(封 3 图 2)。取 HE 染色的病变肝脏分别进行油红“O”染色和 PAS 染色。显微镜观察可见,油红“O”染色阳性的切片中肝细胞中有大小不等的亮红色小滴,既是着色的脂肪滴(封 3 图 3);PAS 染色阳性的切片,部分肝细胞中有紫红色着色物质,即糖原沉积(封 3 图 4)。统计结果显示,其中部分肝脏两种染色阳性有交叉,还有一部分病变肝脏两种染色均

表 1 2009 年 10 月 ~ 2013 年 10 月实验用鼠采样情况

Tab. 1 Classification of laboratory rodents taken samples from October 2009 to October 2013

种类 Species	SPF 级(只) SPF	清洁级(只) Clean grade	普通级(只) Ordinary grade	总数(只) Sum
小鼠 mice	365	656	10	1031
大鼠 rats	180	220	0	400
豚鼠 guinea-pigs	15	130	579	724
合计 sum	560	1006	589	2155

注:上表中的 10 只普通级小鼠为 2009 年抽检的 10 只 NIH 小鼠[7]。

Note: The ten ordinary grades in the table above was checked in 2009[7].

为阴性;说明病变肝脏中有一部分同时发生脂肪变性和糖原沉积,还有部分可能是因为其他原因引起的异常,如采样固定不及时组织发生自溶等

2.2 实验鼠的肾脏病理学变化及统计

HE 染色后镜下观察,正常肾脏的肾小管轮廓清晰,肾小管上皮细胞形态正常,胞核清晰,肾小管管腔内无任何物质。病变的肾脏肾小囊腔中可见有粉染的蛋白样物质渗出(封底图 5),偶见肾小球萎缩坏死,肾小管上皮发生坏死,肾小管管腔中可见粉红色均质性似蛋白样物质,多数聚集于管腔中间,与上皮有一定间隙,即是形成的蛋白管型(封底图 6)。分析认为发生肾脏病变的实验鼠可能在饲养时接触到具有肾毒性的物质或者是处死时肾脏血量急剧减少造成的。

3 讨论

自 2009 年以来,本实验室共对 2155 例实验用鼠的健康状况进行了调查,包括小鼠、大鼠、豚鼠的 SPF 级、清洁级或普通级。从微生物学诊断结果来看,北京市啮齿类实验动物基本上不携带危害人类、其他动物和环境安全的传染性微生物。从病理学诊断结果来看,实验鼠的心脏、脾脏和大小肠基本正常,部分鼠的肺脏因为运输、处死以及应激等环境因素刺激发生轻度的炎症病变。肝脏和肾脏的病变为啮齿类实验动物的主要病变,主要有因脂肪或/和糖原沉积引起的肝细胞肿胀,肾小管的蛋白管型以及肾小球的蛋白样物质渗出。

从肝脏病变的统计分析来看,小鼠的肝脏病变率从最初的 50% 逐渐下降为 30% 左右;2011 年和 2012 年 5 月大鼠的病变率高达 70% 左右,但是自 2012 年 10 月起大鼠的病变率发生了显著的下降,在最近的一个检测中 40 例大鼠中仅有 2 例大鼠的肝脏发生了病变;豚鼠的病变豚鼠的病变率起伏不定,最近 3 次检测稳定在 30% 左右。对 HE 染色病变阳性的肝脏进行特殊染色后发现肝脏的 PAS 染色阳性率明显高于油红“O”染色的病变阳性率,说明糖原沉积是引起实验鼠肝细胞肿胀的主要因素。在机体的不同代谢阶段,肝细胞中有一定量的糖原蓄积也是正常情况。肝脏发生脂肪变性的原因可能与机体对饲料的代谢有关,郑长生[5]指出饲料的营养成分过高,尤其是脂类含量偏高将影响实验动物质量,因此,饲料中脂类成分含量过高可能是实验动物肝脏发生脂肪变性的主要原因。此外,目前我国实验动物饲料标准还不够完善,不同企业或同一企业不同时期生产的饲料差异很大,表现为饲料组分和含量的稳定性较差[6]。所以,尽快建立完善的实验动物饲料标准有助于提高实验动物的健康水平,进而为科学研究的准确性和可靠性提供了保障。另外,在所有细胞肿胀的肝脏中,还有部分肝脏两种特殊染色均呈阴性,推测可能是病变较轻微,特殊染色难以鉴别;或者可能是其它原因所致,如颗粒变性等。适用于科学研究的实验鼠的肝细胞应无萎缩、变性以及坏死等病理异常。

从肾脏病变的统计分析来看,小鼠、大鼠和豚鼠的肾脏病变率均有一定程度的升高,尤其是自 2012 年 10 起,实验鼠的肾脏病变较为严重。其中,小鼠的病变率普遍低于大鼠以及豚鼠的病变率。肾脏病变在不同送检单位以及不同级别的实验鼠中均有发生。实验鼠的肾脏病变可能与饲料代谢或饲养过程中接触到了具有肾毒性的物质有关,应引起饲养单位的重视。健康的实验鼠的肾脏在镜下观察时皮质和髓质应结构完整,无坏死、出血、淤血和异常物质渗出等病理变化。

综上,部分实验用鼠表现出以肝脏的细胞肿胀和肾脏的蛋白样物质渗出为代表的病理学变化,其病变程度不一,在一定程度上会影响动物的生命特征和新陈代谢。希望这些情况可以通过加强饲养管理、完善饲料标准来控制,从而增加科学实验的成功率。根据我们调查结果,我们建议用于科学研究的实验鼠的心脏、肺脏、脾脏、肾脏、和大小肠等重要的器官在眼观和显微镜检查时都不应出现病理性异常。

参考文献:

[1] 罗满林. 顾为望. 实验动物学[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
[2] 赵德明. 兽医病理学[M]. 第 3 版. 北京:中国农业大学出版社,2013.
[3] 王敏. 2011 年实验用鼠健康状况的病理学调查和分析[J]. 实验动物科学. 2012,29(3),20 - 23.
[4] 王继宏等. 2012 年秋季北京地区啮齿类实验动物健康状况的病理学调查和分析[J]. 实验动物科学. 2013,30(1),15 - 25.
[5] 刘腾,蒋辉. 北京市场供应部分实验动物饲料检测与分析[J]. 实验动物科学. 2011,28(1),73.
[6] 郑长生. 浅谈实验动物饲料对实验动物质量的影响[J]. 实验动物科学. 2009,26(5),61 - 63.
[7] 杨杨. 2009 年实验用鼠健康状况的病理学调查和分析[J]. 实验动物科学. 2010,27(6),20 - 23.

〔修回日期〕2014-05-26