



第60届日本实验动物年会重点科研内容介绍与分析

张伟伦, 刘颖

(中国医学科学院医学实验动物研究所)

【中图分类号】R332 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2014) 05-0080-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.017

2013年5月,随中国实验动物学代表团,参加了第60届日本实验动物科学技术年会。除日本本国研究者外,中国、中国台北、意大利、澳大利亚、韩国、菲律宾、印度、新加坡等多个国家和地区的实验动物界派人参加会议,会议汇集了的近千名实验动物相关领域的科研、技术及管理专家。本次会议共接收了论文及报告投稿200多篇,涉及了实验动物的各个领域。按照不同议题设置5个分会场进行报告,现将其中部分重点内容作一简要介绍与分析,与读者分享。

1 疾病动物模型

这次会议投稿的论文涉及到实验动物的方方面面,包括实验动物的使用管理、实验动物的育种生殖技术的使用和基因工程技术的应用、活体成像技术的应用、人类疾病相关动物模型的构建和机制研究等内容。关于疾病动物模型的相关研究共有报告论文18篇,海报论文12篇,内容涉及新的疾病模型探索、发病机制研究和药物治疗相关研究等(表1)。

主要表现为以下几个特点:第一、实验动物应用多样化,虽然小鼠仍是主要应用的疾病模型用实验动物,但大鼠和其他动物也逐渐受到重视;在30篇论文中有21篇(70%)是使用小鼠为模型构建疾病模型,其他9篇论文分别使用了大鼠、兔、猪和森林姬鼠为模型动物;第二、基因工程操作成为疾病机制研究中的主流方法,总共有18篇(60%)论文

涉及基因操作,其中13篇为转基因、基因敲除等基因工程动物,5篇为点突变或ENU诱变;第三、重视组学研究,有2篇论文探讨了疾病模型中基因组和转录组的变化,从组学研究的大方向着手探讨疾病模型的机制;第四、除常见病、多发性的动物模型研究,动物模型涉及的疾病种类向更广阔的方向发展,论文中研究的疾病包括发育异常(3篇)、糖脂代谢异常(4篇)、遗传性视力/听力障碍(3篇)、免疫相关疾病(3篇)、肿瘤(2篇)、妊娠高血压(2篇)、婴儿猝死综合症(1篇)和阴茎勃起异常(1篇),构建和使用的动物模型在发育、免疫、儿科、耳鼻喉科、妇产科等多个临床科室都有应用,与临床结合更为紧密。

2 灵长类动物—狨猴动物模型研究

灵长类动物因其与人类的遗传相似性,成为生物医学界最常见的实验动物之一。本届日本实验动物学会中,灵长类的实验动物研究是会议的热点之一。会议中,涉及的非人灵长类有恒河猴、猪尾猴、食蟹猴和狨猴。特别是狨猴,由于其高繁殖率、易于实验操作、饲养成本低,是目前公认的进行神经精神疾病及脑功能研究的最好的动物模型之一。会议论文中仅狨猴相关的论文就有12篇。涉及动物的基因组学研究,疾病动物模型的建立、转基因技术的探讨、动物繁殖、兽医学研究以及动物的微生物检测等各个方面(表2)

第 60 届日本实验动物年会动物疾病模型相关领域研究报道

	大会报告:	大会海报
报告数(篇)	18	12
使用基因工程动物	13	
基因/转录组研究	2	
小鼠	21	
大鼠	2	
其他实验动物	猪,兔,森林姬鼠	
疾病涉及	发育异常	3
	糖脂代谢异常	4
	遗传性听力/视力障碍	3
	免疫相关疾病	3
	肿瘤	2
	妊娠高血压 2, 婴儿猝死综合症 1 阴茎勃起异常 1	

题 目

Characterization of Neural Development and Diseases by iPSC-technologies and transgenic marmoset

利用 IPS 细胞技术和转基因狨猴研究神经发育及神经疾病

Potential of common marmosets as experimental animal in social neuroscience

狨猴作为社会神经科学实验动物可能性

Towards a knock down transgenic model of type II diabetes in a common marmoset

利用转基因狨猴制备 II 型糖尿病动物模型

Expression pattern of early genes during early marmoset development

狨猴早期发育过程中早期基因表达研究

Immune-related gene expression profile in common marmosets assessed by quantitative real-time PCR

利用实时定量 PCR 分析狨猴免疫相关基因的表达谱的研究

Duodenal dilation case with chronic vomiting in common marmoset

狨猴十二指肠扩张伴慢性呕吐病例报道

A case of non-traumatic gas gangrene in a common marmoset

狨猴非创伤性气性坏疽病例报道

Procedures for collection and preparation of ejaculated sperm for IVF in the common marmoset

狨猴人工授精过程中精子的收集及准备程序

A novel intrauterine insemination technique in common marmoset

狨猴宫腔内人工授精的新技术探讨

Application of XM-EHEC agar for the test of EPEC in common marmoset

利用 XM-EHEC 琼脂检测狨猴的致病性大肠埃希氏菌(EPEC)

Enteropathogenic Escherichia coli infection in common marmosets with gastrointestinal hemorrhage

狨猴肠致病性大肠杆菌感染伴胃肠道出血

1) 在狨猴的疾病模型研究中, keio 医学院实验动物中心拟利用 RNA 干扰技术制备了 2 型糖尿病的动物模型, 目前已在体外完成了部分工作。该大学的生理系, 使用小鼠模型和狨猴转基因模型, 对 IPS 细胞治疗脊髓损伤等顽固性神经疾病的有效性、安全性进行了探讨。Keyoto 大学的灵长类研究所根据狨猴的特殊的生活方式, 形成一个小的种群, 利用该模型进行社会行为学的研究。

2) 在繁殖技术研究中, 日本 HIROSHIMA 大学的实验动物中心将克隆技术应用于狨猴育种, 将形成一个遗传背景一致的非人灵长类动物人工种群。在此过程中, 该中心对狨猴的精子采集、体外精子处理、人工授精、子宫内的技术操作等领域都进行了探索并发表了会议论文。

3) 在狨猴的兽医学研究中, kawasaki 动物中心报道了一例狨猴的非创伤性气性坏疽的病例, 这是首次在狨猴中报道该病例的出现。该中心还专题介绍了狨猴的伴慢性呕吐的十二指肠扩张症的治疗及预后经验。

4) 实验动物检测方面, Kawasaki 大学将 XM-EHEC 培养基用于肠致病性大肠杆菌的培养, 通过 PCR 方法建立了狨猴粪便中该菌的检测方法。同时分析了 609 份样品中大肠杆菌的检出情况, 结果提示该菌的感染与消化道出血有密切关系。

3 国家生物资源项目(NBRP)

“国家生物资源项目”是 2002 年度日本文部科学省从全面推进生命科学的立场出发设立的计划,

其目的在于:在实验动植物、ES 细胞等干细胞、各种生物的基因材料等生物遗传资源(生物资源)中,选择对于国家战略十分重要的资源,进一步完善体制,以进行系统化的收集、保存、提供等。

该项目是日本以国家高度推行的生物资源项目,是对作为生命科学研究基础的生物资源(动物、植物等)进行收集、保存、提供的同时,以提高生物资源品质为目标,通过开发保存技术、分析基因组等技术提高生物资源的附加价值,并以此来完善生物资源以适应时代的需求。此外,还要强化信息中心的功能,以提供广泛的生物资源所在信息等。目前项目前两期已经执行完毕,(2002 年度至 2006 年度,2007 年度-2011 年度),2012 年度至 2016 年度的第三期项目正在执行。

在项目实施过程中,为了进行符合上述目的的收集、保存、提供及技术开发等,设置(1)完善核心基地计划、(2)完善基因组信息计划、(3)完善基础技术计划、(4)完善信息中心计划等 4 项计划。

通过完善核心基地计划,文部省设立了收集保存的动植物种类不同,设立了 30 个基地(表 3)。

在实验动物领域最常应用的大小鼠领域,小鼠项目以理化研究所为基地,主要任务是常规品系的收集,小鼠病原体检测及净化,SPF 小鼠的繁育、品系的冻存,以及基因工程小鼠的维持与保存。目前在其数据库中可检索到常规品系及基因突变品系 3329 种,以该资源中心提供的小鼠,已发表 science 5 篇, Nature 8 篇,以及其他各种高水平杂志论文 433 篇。大鼠项目以京都大学为基地,完成日本及国外的实验用、自发突变大鼠、转基因大鼠的保种,除了以精子、胚胎细胞冻存对形式进行保存外,还对外提供常用的大鼠品系。同时,对这些品系进行微生

物及遗传学监测。目前其网站已拥有 597 种大鼠的比较医学信息,并以活体形式保存了 95 种大鼠并对外提供。利用该资源中心的大鼠为研究对象,共发表包括 Nature 在内的高水平论文 316 篇。

4 国际小鼠表型分析计划

该计划由国际上 16 个从事实验动物相关研究的科研单位及公司共同参与,其目标是通过全球合作,研究小鼠体内 2 万个基因的表型及功能,利用基因工程技术获得 2 万种基因敲除小鼠的胚胎干细胞,对这些进行比较医学信息研究,最终建立包含小鼠每个基因的比较医学信息库。由于在小鼠基因组中 99% 的基因与人类基因相对应,通过研究这些小鼠的基因及相应小鼠的表型,可以为生物学研究提供新的手段与思路,并推动如心血管病及糖尿病等人类重大疾病的发病机制的研究。该计划的实施将会大大缩小基础研究与临床研究的距离。

参与国家包括美国国立卫生院、欧盟、英国医学研究理事会(MRC)、加拿大卫生部。日本理化研究院(RIKEN)等。其中美国 NIH 在 2011 年通过了 KOMP2(Knockout Mouse Phenotyping Program)计划,在 10 年内资助 1.1 亿美元用该项目的执行。计划将分为 2 个阶段分步实施:第一阶段(2012-2016)分析 5000 个基因的基因剔除小鼠的表型,第二阶段(2017-2022)分析 15000 个基因的基因剔除小鼠的表型。

在本次会议上,亚洲各国对各自的平台进行了报告,韩国的平台主要集中老年病相关的小鼠的表型分析,特别是代谢及感觉相关基因工程小鼠的表型分析。包括肥胖、2 型糖尿病及高脂血症代谢等疾病模型。主要进行身体组成、代谢参数、运动分

实验动物小鼠	(理研 BRC)	大麦	(冈山大学)
大鼠	(京都大学)	藻类	(环境研究所)
果蝇	(遗传学研究所)	广义茼蒿属植物	(广岛大学)
线虫	(TWMU)	牵牛花	(九州大学)
家蚕	(九州大学)	牛角花、大豆	(宫崎大学)
青鱈鱼	基础生物学研究所	西红柿	(筑波大学)
斑马鱼	(理研 BSI)	细胞状粘菌	(筑波大学)
日本猕猴	(生理学研究所)	病原微生物	(千叶大学)
玻璃海鞘	(筑波大学)	一般微生物	(理研 BRC)
Chicken / Quail	(Nagoya Univ.)	原核生物(大肠杆菌)	(遗传学研究所)
Paramecium	Yamaguchi Univ.	原核生物(枯草杆菌)	遗传学研究所
热带爪蟾	(广岛大学)	酵母	(大阪市立大学)
阿拉伯芥	(理研 BRC)	基因材料	(理研 BRC)
水稻	(遗传学研究所)	人类、动物细胞	(理研 BRC)
小麦	(京都大学)	Cord blood stem cells for research	(Tokai Univ.)

的检测指标。而大约 80% 的 AST 存在于线粒体内, 只有当肝上皮细胞坏死时, 血清中 AST 水平才会明显升高^[11]。

从组织形态学上, 该模型也呈现出肝损伤的特征, 坏死灶密集分布, 枯否氏细胞显著增多, 小叶分界颇不清晰, 结构紊乱, 结节状增多, 40 倍镜下可见结节性增生区域肝上皮细胞细胞核浓缩、溶解、坏死, 坏死细胞处出现枯否氏细胞聚集。而在相同部位 Masson 染色可见大量结节样蓝色深染, 特别是在肝上皮细胞大量变性坏死区域, 蓝色深染充斥整个区域, 细碎偏淡的条状蓝染已经融合成粗大、深蓝的结节样改变。

综上本实验建立的慢性肝损伤小鼠模型不仅具有较好的稳定性, 而且具有明显的生化、形态学、病理学特征。该模型的建立为研究慢性肝损伤的发病机制, 探索慢性肝损伤治疗新措施, 筛选治疗新药物提供了新的选择, 具有重要意义。

参考文献:

- [1] 王福根, 孙静霞. 肝损伤动物模型的建立和应用[J]. 中国药房, 2006, 17(9): 702 - 703.
- [2] 李梅, 谷淑玲, 马腾飞. D-氨基半乳糖致小鼠、大鼠肝损伤模型的实验性研究[J]. 徐州医学院学报, 2007, 27(2): 86 - 88.
- [3] 张海燕, 侯维. 大鼠慢加急性肝衰竭模型建立的方法探讨[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2009, 18(4): 348 - 351.
- [4] 张锦雀, 黄丽英. 肝损伤动物模型研究进展[J]. 福建医科大学学报, 2009, 43(1): 86 - 88.
- [5] 陈恩强, 王丽春, 唐红, 等. 脂多糖联合 D-氨基半乳糖诱导急性重症肝炎小鼠模型的建立[J]. 华西医学, 2009, 24(1): 129 - 131.
- [6] 李劲, 张健, 刘光泽, 等. D-氨基半乳糖与脂多糖对小鼠肝脏损伤后再生修复的影响[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(1): 50 - 54.
- [7] Abou - Elella AM, Siendones E, Padillo J, et al. Tumour necrosis factor- α and nitric oxide mediate apoptosis by D-galactosamine in a primary culture of rat hepatocytes: exacerbation of cell death by cocultured Kupffer cells [J]. Can J Gastroenterol, 2002, 16(11): 791 - 799.
- [8] 潘庆军, 朱学芝, 刘渊. LPS /D-GalN 诱发 NF- κ B 转基因小鼠急性致死性肝损伤模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(4): 1 - 5.
- [9] 张海燕, 温韬. 四氯化碳诱导大鼠慢性肝损伤模型方法的探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2009, 12(3): 161 - 163.
- [10] 周光兴, 高诚, 徐平, 等. 人类疾病动物模型复制方法学[M]. 上海科学技术文献出版社, 2008: 87 - 88.
- [11] 张丽杰. 血清转氨酶的测定及临床意义[J]. 中国医药指南, 2012, 10(9): 298 - 299.

[修回日期] 2014-04-16

(下接第 82 页)

析、能量分析、胰岛素钳夹技术分析以及组织学分析。感官的表型分析包括嗅觉、听见和视觉的分析。在此基础上利用 MRI 和 OCT 影响进行更加准确的综合分析。台湾的工作主要集中在免疫相关小鼠、老年病、神经退行性疾病及骨科疾病的模型小鼠的分析。该平台分两步对模型进行免疫学的表型分析。利用流式细胞术先对小鼠脾脏和血液中的免疫细胞进行分类, 在此基础上对免疫细胞的亚型分类并进行功能检测。澳大利亚在 ENU 突变小鼠中具有多年的工作经验。在小鼠基因组单核苷酸突变与小鼠表型的关系进行了大量研究, 特别是免疫系统的记忆性/效应性 T、B 淋巴细胞的分析。会议主办方日本也就平台的建设与发展进行

了报告, 日方的工作主要是利用对照数据对平台进行的表型分析数据的一致性研究及建立基于多参数的表型分析系统。

感想: 第 60 届日本实验动物年会内容涉及广泛, 仅涉及的动物物种就包括大小鼠、雪貂、兔、乌龟、比格犬、果蝇、线虫、mekada 鱼、金鱼、羊、狨猴、恒河猴等多个物种, 研究内容涉及了实验动物检测、实验动物技术、保种育种、动物基因组学、人类疾病动物模型制作、比较医学、人类疾病机制、实验动物伦理学等各个方面。在许多热点研究领域, 日本动物学界已进行了较深入的研究, 拥有了较高水平的研究, 值得我们学习与追赶。