

SD大鼠90 d喂养试验的历史背景数据

秦超, 李双星, 赵婷婷, 蒋晨晨, 赵晶, 杨艳伟, 林志, 王三龙, 文海若

(中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176)

[摘要] **目的** 为保证研究数据的可靠性, 建立SD大鼠90 d喂养试验的历史背景数据。**方法** 通过汇总2020—2023年国家药物安全评价监测中心的6个独立的SD大鼠90 d喂养试验中空白对照组动物(120只SPF级4周龄SD大鼠, 雌雄各半, 仅给予普通鼠全价颗粒饲料)的背景数据。检疫期结束后, 动物继续观察90 d, 之后腹腔注射(50 mg/mL)舒泰麻醉、取血、处死并解剖。通过分析空白对照组数据, 建立SD大鼠相关背景数据库。**结果** 雄性和雌性大鼠的平均体重均稳步增长, 雄性大鼠体重增长幅度更为明显。90 d内雄性和雌性大鼠平均体重分别增长至500 g和300 g以上。3周后, 雄性大鼠每日平均摄食量基本稳定在25~28 g/只, 雌性大鼠每日平均摄食量基本稳定在16~19 g/只。所有动物的食物利用率自实验第1周开始逐渐下降。白细胞分类计数结果中, 雌性与雄性白细胞(white blood cell, WBC)、中性粒细胞(neutrophil, Neut)、淋巴细胞(lymphocyte, Lymph)、单核细胞(monocyte, Mono)的数值差异有统计学意义($P<0.001$), 但中性粒细胞百分率(neutrophil percentage, % Neut)、淋巴细胞百分率(lymphocyte percentage, % Lymph)、单核细胞百分率(monocyte percentage, % Mono)两性别之间差异无统计学意义($P>0.05$)。雄性动物的平均红细胞数(red blood cell count, RBC)、血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、红细胞比容(hematocrit, HCT)、血小板数(platelet count, PLT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)和活化部分凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)高于雌性($P<0.05$)。雄性大鼠平均丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、葡萄糖(glucose, GLU)、甘油三酯(triglyceride, TG)数值高于雌性($P<0.05$)。雄性动物的尿pH值范围在5.0~8.5, 雌性动物尿pH值范围在6.5~9.0。绝大多数雄性动物的尿比重低于1.020, 绝大多数雌性动物的尿比重低于1.015。雄性动物各脏器(肾上腺、生殖器官除外)称重均高于雌性($P<0.001$), 而雌性动物的脏体比(肾脏、生殖器官除外)高于雄性($P<0.001$)。**结论** 总结国家药物安全评价监测中心6项90 d喂养试验中未给药对照组SPF级SD大鼠的体重、摄食量、血液学、血清生化各项指标的背景参考值范围, 可为相关研究提供重要的参考数据。梳理大鼠背景性和自发性的组织病理学改变, 有助于后续研究的规范化和标准化, 以及异常结果的评判分析。

[关键词] 药物安全评价; SD大鼠; 90 d喂养试验; 血液学; 血清生化; 病理学改变

[中图分类号] Q95-33; R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(XXXX)XX-0001-10



Historical Background Data of 90-day Feeding Study in SD Rats

QIN Chao, LI Shuangxing, ZHAO Tingting, JIANG Chenchen, ZHAO Jing, YANG Yanwei, LIN Zhi, WANG Sanlong, WEN Hairuo

(National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of Beijing for Nonclinical Safety Evaluation Research of Drugs, Beijing 100176, China)

Correspondence to: WEN Hairuo (ORCID: 0000-0002-7648-1088), E-mail: wenhairuo@nifdc.org.cn

[ABSTRACT] **Objective** To establish historical background data for a 90-day feeding trial of SD rats to ensure the reliability of research data. **Methods** Background data from six independent 90-day feeding

[基金项目] 国家科技重大专项“重大新药创制”专项课题“创新药物非临床安全性评价关键技术研究”(2018ZX09201-017); 药品监管科学全国重点实验室课题“药品杂质遗传毒性评价新技术和生物标志物研究”(2023SKLDRS0128); 中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金课题“细胞治疗产品肿瘤杀伤的新型体外药效评价模型的建立及应用”(2023C1)

[第一作者] 秦超(1983—), 男, 本科, 主管技师, 研究方向: 动物实验技术。E-mail: 123642651@qq.com

李双星(1995—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 毒性病理。E-mail: lishuangxing@nifdc.org.cn

[通信作者] 文海若(1981—), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 药物安全性评价。E-mail: wenhairuo@nifdc.org.cn. ORCID: 0000-0002-7648-1088

trials of SD rats conducted by the National Center for Safety Evaluation of Drugs from 2020 to 2023 were summarized. These studies involved a blank control group of 120 SPF-grade 4-week-old SD rats, with an equal number of males and females, which were only given standard full-nutrient pelleted rat feed. After the quarantine period, the animals were observed for an additional 90 days, followed by intraperitoneal injection of Zoletil anesthesia (50 mg/mL), blood sampling, euthanasia, and necropsy. By analyzing the data from the blank control group, a relevant background database for SD rats was established. **Results** Both male and female rats exhibited steady weight gain, with a more pronounced increase in male rats. Within 90 days, the average body weight of male and female rats increased to over 500 g and 300 g, respectively. Three weeks later, the average daily food intake of male rats stabilized at approximately 25-28 g per rat, while that of female rats remained stable at approximately 16-19 g per rat. The food utilization rate of all animals gradually decreased from the first week of the experiment. In the white blood cell (WBC) differential count results, significant differences were observed in the counts of WBCs, neutrophils (Neut), lymphocytes (Lymph), and monocytes (Mono) between males and females ($P < 0.001$). However, there were no significant differences in the percentages of Neutrophil (%Neut), Lymphocyte (%Lymph), and Monocyte (%Mono) between the sexes ($P > 0.05$). The average red blood cell count (RBC), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit (HCT), platelet count (PLT), prothrombin time (PT), and activated partial thromboplastin time (APTT) were higher in male animals than in female animals ($P < 0.05$). The average values of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), creatine phosphokinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), glucose (GLU), and triglyceride (TG) in male rats were higher than those in female rats ($P < 0.05$). The urinary pH range for male animals was 5.0 to 8.5, while for female animals it was 6.5 to 9.0. The majority of male animals had a urinary specific gravity lower than 1.020, and the majority of female animals had a urinary specific gravity lower than 1.015. The weights of various organs (excluding the adrenal glands and reproductive organs) in male animals were heavier than those in female animals ($P < 0.001$), while the organ/body weight ratio (excluding the kidneys and reproductive organs) of female animals were higher than those of male animals ($P < 0.001$). **Conclusion** This study summarizes the background reference ranges for body weight, food intake, hematology, and serum biochemistry indicators in SPF-grade SD rats in the control group without drug administration in six 90-day feeding trials conducted by the National Center for Safety Evaluation of Drugs. It provides important reference data for related research. By summarizing the background and spontaneous histopathological changes in rats, this study aids in the standardization and normalization of subsequent research, as well as the evaluation and analysis of abnormal results.

[Key words] Drug safety evaluation; SD rats; 90-day feeding study; Hematology; Serum biochemistry; Pathological changes

90 d 喂养试验是一种重要的亚慢性毒性试验, 广泛应用于食品安全评估、新食品原料审批、农药和兽药残留评价等领域^[1-3]。该试验通过长期(90 d)给予实验动物受试物, 观察其毒性效应, 可为评估受试物的安全性提供科学依据^[4]。为保证研究数据的可靠性, 实验室需要建立相关背景数据, 以区分受试物本身或其它系统性因素导致的异常结果。

SD 大鼠使用范围广, 是 90 d 喂养试验常用的啮齿类动物^[5]。本文归纳了 2020—2023 年期间国家药物安全评价监测中心的大鼠 90 d 喂养试验项目, 通过收集并分析其中空白对照组(未给药大鼠)的相关数据, 建立动物体重、摄食量、血液学、血清生化、血液凝

固、尿生化及病理学相关背景数据库, 以期为相关试验的结果分析提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 动物

120 只 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [SCXK (京) 2021-0006], 购入时 6 批次大鼠平均日龄约 28 d (雄性平均体重 81.5~97.9 g; 雌性平均体重 81.2~98.8 g)。动物饲养设施为中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心屏障系统 [SYXK (京) 2021-0072]。大鼠在屏障系统内网盖开放式笼盒饲养, 自由摄食。饲养环

境保持在温度 20~26 °C, 相对湿度 40%~70%, 每小时换气 15 次以上, 明暗时间每天各 12 h。6 批次实验动物质量合格证编号分别为 110011201108368514/110011201108368663、1100112111105761041/1100112111105760983、110011221100776562/110011221100776426、110011211108735352/110011211108735467、110011221111465612/110011221111465513 和 110011221110275328/110011221110275481。研究方案均通过国家药物安全评价监测中心实验动物福利伦理委员会 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 的伦理审查 (审查批件编号为 IACUC-2020-110、IACUC-2021-041、IACUC-2022-032、IACUC-2022-042、IACUC-2022-139 和 IACUC-2022-140)。

1.2 主要试剂和仪器

钴⁶⁰放射灭菌鼠全价颗粒饲料 (北京科澳协力饲料有限公司, 批号 21023213、21033213、21073213、22013213、22043213、22053213、22093213 和 22116113)、全血细胞计数试剂 (货号: T01-3620-52, 德国 SIEMENS AG 公司)、碱性磷酸酶 (货号: 996-63891, 日本 Wako 公司)、谷丙转氨酶 (货号: 994-62591, 日本 Wako 公司)、谷草转氨酶 (货号: 998-61891, 日本 Wako 公司)、谷氨酰转肽酶 (货号: 992-63491, 日本 Wako 公司)、总胆汁酸测定试剂盒 (货号: CH0101005, 四川迈克生物科技股份有限公司)、尿素测定试剂盒 (货号: CH0101051, 四川迈克生物科技股份有限公司)、甘油三酯测定试剂盒 (货号: CH0101151, 四川迈克生物科技股份有限公司)、血凝一次性反应杯 SUC-400A (货号: 064-1481-0, 德国 SIEMENS AG 西门子子公司)、尿十项试纸 (干化学检测法) [货号: Multistix 10 SG Reagent Strips (REF: 2169), 德国 SIEMENS AG 公司]。

主要仪器包括, BCE2201-1CCN 型电子天平 (德国 Sartorius 公司)、H500FR 型台式高速冷冻离心机 (日本 Kokusan 公司)、MINIAM4290 尿分析仪 (日本 Aution 公司)、ADVIA120 血液分析仪 (德国 SIEMENS AG 公司)、CA-1500 血凝分析仪 (日本 Sysmex 公司)、7180 型全自动生化分析仪 (日本 Hitachi 公司)、TEC5EMJ-2 型自动包埋机 (日本 Sakura 公司)、DRS-2000 自动染色机及封片机 (日本 Sakura 公司)、80iBF-TUW 光学显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.3 实验设计

汇总国家药物安全评价监测中心 2020—2023 年完

成的 6 个独立的 SD 大鼠 90 d 喂养试验中空白对照组大鼠 (仅给予普通鼠全价颗粒饲料) 的背景数据。检疫期 (4 d) 结束后, 动物继续观察 90 d。动物以 1 mL/kg 腹腔注射舒泰 (50 mg/mL) 麻醉, 之后从下腔静脉取血, 完全放血处死并解剖。

1.4 检测指标

研究期间每天观察大鼠临床症状, 包括是否死亡、濒死、活动状况、外观及被毛、有无外伤、粪便情况等; 每周测定大鼠体重及摄食量 2 次, 根据体重和摄食量计算每周的食物利用率 (每周大鼠摄入 100 g 饲料所增长的体重数值, 即 $\text{g 体重}/100 \text{ g 饲料}$); 90 d 观察结束前做尿检查。大鼠经麻醉后从下腔静脉取血, 用于血液学检查、血液凝固及血清生化检查。之后完全放血处死。完整摘取并称主要脏器 (脑、胸腺、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、肾上腺、脾脏、睾丸/子宫 (带子宫颈)、附睾/卵巢), 成对的脏器一起称重。根据末次体重测量值, 计算脏器比 [脏器重量/末次体重 $\times 100 = \text{脏器比值 (g/100 g)}$] [6] 和脏器比 [脏器重量/脑重 = 脏器比值 (g/g)]。保存组织 [包括脑、垂体、甲状腺、胸腺、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、肾上腺、脾脏、胰腺、胃、肠 (起于胃幽门, 止于肛门)、睾丸、附睾、前列腺、卵巢、子宫、膀胱、肠系膜淋巴结、颌下淋巴结和腮腺淋巴结]。睾丸用 Davidson's 固定液固定, 其它脏器用 10% 中性缓冲福尔马林溶液固定。将组织固定后经修块, 梯度乙醇溶液脱水, 石蜡包埋, 切片机切片 (厚约 3 μm), 使用苏木精-伊红 (HE) 染色, 光学显微镜下进行检查。

血液学指标包括白细胞 (white blood cell, WBC)、中性粒细胞 (neutrophil, Neut)、淋巴细胞 (lymphocyte, Lymph)、单核细胞 (monocyte, Mono)、嗜酸性粒细胞 (eosinophil, Eos)、嗜碱性粒细胞 (basophil, Baso)、红细胞数 (red blood cell count, RBC)、血红蛋白浓度 (hemoglobin, HGB)、红细胞比容 (hematocrit, HCT)、平均红细胞容积 (mean corpuscular volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白量 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板数 (platelet count, PLT)、网织红细胞 (reticulocyte, Retic)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 和活化部分凝血激酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)。

血清生化指标包括: 丙氨酸氨基转换酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转换酶

(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、肌酸磷酸激酶 (creatine phosphokinase, CK)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (creatinine, CRE)、葡萄糖 (glucose, GLU)、总胆固醇 (total cholesterol, CHO)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总蛋白质 (total protein, TP)、白蛋白 (albumin, ALB)、白蛋白/球蛋白 (albumin/globulin ratio, A/G)、血清钠 (sodium, Na^+)、血清钾 (potassium, K^+) 和血清氯 (chloride, Cl^-)。

尿检查指标包括尿糖、尿蛋白、胆红素、尿胆原、pH、尿比重、隐血、酮体、亚硝酸盐和WBC。

1.5 统计及数据分析

根据 Tukey 法和生物学意义判断体重、摄食量、血液学指标、血液凝固及血清生化检查指标、脏器称重和脏体比、脏脑比等数据的离群值, 本研究未发现

离群值。血液学指标、血液凝固及血清生化检查指标的参考区间以 $\text{Mean} \pm 1.96\text{SD}$ 表示, 脏器重量以 $\text{Mean} \pm \text{SD}$ 表示。不同性别动物各指标之间的比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。临床症状观察、尿检查及组织病理学检查结果直接列出观察结果。数据图经 GraphPad Prism 8.01 软件处理生成。

2 结果

2.1 大鼠体重和摄食量

在 90 d 试验观察期间, 大鼠体重、摄食量和食物利用率数据汇总见图 1。雄性和雌性大鼠的平均体重均稳步增长, 雄性大鼠体重增长幅度更为明显。90 d 内雄性和雌性大鼠平均体重分别增长至 500 g 和 300 g 以上。3 周后, 雄性和雌性大鼠的日平均摄食量分别稳定在 25~28 g/只和 16~19 g/只。所有动物的食物利用率自第 1 周开始逐渐下降。因第 13 周动物在解剖前禁食, 食物利用率出现负值。

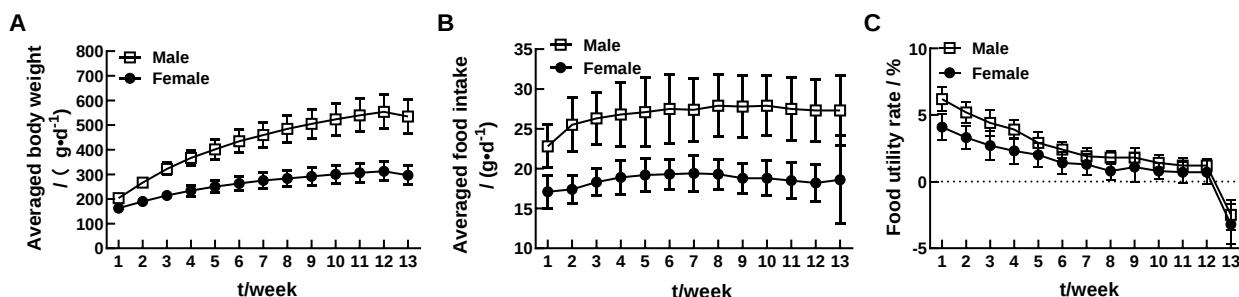


图1 SD大鼠体重(A)、摄食量(B)和食物利用率(C)变化趋势

Figure 1 Trends of body weight(A), food intake(B) and food utilization rate(C) in SD rats

2.2 大鼠临床生理学指标

大鼠各项血液学和血液凝固学检查数据见表1, 血清生化检查结果见表2。白细胞分类计数结果中, 尽管WBC、Neut、Lymph、Mono的数值雌性与雄性间的差异存在统计学意义 ($P < 0.05$), 但%Neut、%Lymph、%Mono两性别的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。雄性动物的平均RBC、HGB、HCT、PLT、PT和APTT高于雌性 ($P < 0.05$)。雄性大鼠平均ALT、AST、ALP、CK、LDH、GLU、TG数值高于雌性 ($P < 0.05$)。

大鼠各项尿检查数据见表3。个别大鼠的蛋白质、胆红素、尿胆原、隐血和酮体可出现阳性结果, 雄性大鼠的尿pH值范围在5.0~8.5, 大多数大鼠为6.5~8.0; 雌性大鼠尿pH值范围在6.5~9.0, 大多数大鼠位于7.0~8.5。绝大多数雄性大鼠的尿比重低于1.020, 绝大多数

雌性大鼠尿比重低于1.015。

2.3 大鼠脏器重量

90 d在体研究结束后, 雄性和雌性大鼠的主要脏器称重和脏体比、脏脑比见表4。试验末期对大鼠心脏、肝脏、肺(含支气管)、脾脏、肾脏、脑、胸腺和肾上腺及生殖器官进行称重。因雄性大鼠体重较重, 各脏器(肾上腺、生殖器官除外)称重均高于雌性 ($P < 0.05$), 而雌性大鼠的脏体比(肾脏、生殖器官除外)高于雄性 ($P < 0.05$)。

2 4 组织病理学检查

所有大鼠的组织病理学检查结果中异常所见如表5所示。常见背景性病变包括肾脏单核细胞浸润和嗜碱性肾小管、炎性细胞浸润或伴心肌细胞变性/坏死、心

表2 SD大鼠血清生化指标检查结果

Table 2 Results of serum biochemical indices in SD rats
(*n*=60)

指标	雄性	雌性
Index	Male	Female
丙氨酸氨基转换酶 ALT/(U·L ⁻¹)	37±18	28±16
天门冬氨酸氨基转换酶 AST/(U·L ⁻¹)	128±35	107±37
碱性磷酸酶 ALP/(U·L ⁻¹)	104±45	53±27
肌酸磷酸激酶 CK/(U·L ⁻¹)	747±494	634±439
乳酸脱氢酶 LDH/(U·L ⁻¹)	1240±735	1072±672
γ-谷氨酰转肽酶 GGT/(U·L ⁻¹)	4.52±1.84	2.43±0.88
总胆红素 TBIL/(μmol·L ⁻¹)	2.61±0.76	3.16±1.31
尿素 UREA/(mmol·L ⁻¹)	6.1±2.35	6.2±2.35
肌酐 CRE/(μmol·L ⁻¹)	30±8	34±8
葡萄糖 GLU/(mmol·L ⁻¹)	7.8±3.02	6.92±1.41
总胆固醇 CHO/(mmol·L ⁻¹)	1.8±0.82	1.97±0.98
甘油三酯 TG/(mmol·L ⁻¹)	0.68±0.53	0.56±0.51
总蛋白质 TP	64.3±10.2	69±11.4
白蛋白 ALB	40.8±12.0	48.5±15.3
白蛋白/球蛋白 A/G	1.81±0.88	2.51±1.45
血清钾 K ⁺ /(mmol·L ⁻¹)	5.04±0.61	4.61±0.61
血清钠 Na ⁺ /(mmol·L ⁻¹)	144.1±3.3	143.1±2.5
血清氯 Cl ⁻ /(mmol·L ⁻¹)	102.9±4.3	103.4±5.3

肌病、前列腺炎症细胞浸润、肝脏小肉芽肿、肺脏泡沫样细胞聚集、肝细胞空泡变性等。

Table 3 Results of urine examination in SD rats

(n=60)										
性别 Gender	葡萄糖 Glucose	蛋白质 Protein	胆红素 Bilirubin	尿胆原 Urine Urobilino - gen	酸碱值 pH	尿比重 Urine Specific Gravity	隐血 Occult Blood	酮体 Ketones	亚硝酸盐 Nitrite	白细胞 Leukocytes (leu/μL)
雄性 Male	-: 60/60	-: 1/60	-: 59/10	NORMAL: 41/60	5.0: 2/60	<1.005: 18/60	-: 41/60	-: 22/60	-: 60/60	-: 9/60
		+-: 13/60	1+: 1/60	1+: 15/60	5.5: 1/60	1.010: 18/60	+-: 15/60	+-: 27/60	25: 15/60	
		1+: 24/60		2+: 4/60	6.0: 1/60	1.015: 10/60	1+: 3/60	1+: 11/60	75: 26/60	
		2+: 20/60			6.5: 7/60	1.020: 11/60	2+: 1/60		500: 1/60	
		3+: 2/60			7.0: 6/60	1.025: 2/60				
					7.5: 3/60	>1.030: 1/60				
					8.0: 23/60					
雌性 Female	-: 60/60	-: 29/60	-: 10/10	NORMAL: 50/60	6.5: 2/60	<1.005: 23/60	-: 55/60	-: 55/60	-: 60/60	-: 41/60
		+-: 17/60		1+: 7/60	7.0: 6/60	1.010: 19/60	+-: 2/60	+-: 8/60	25: 8/60	
		1+: 11/60		2+: 2/60	7.5: 3/60	1.015: 15/60	1+: 1/60	1+: 2/60	75: 3/60	
		2+: 3/60		3+: 1/60	8.0: 22/60	1.020: 3/60	2+: 1/60		250: 2/10	
					8.5: 26/60		3+: 1/60			
				9.0: 1/60						

表4 约18周龄SD大鼠主要脏器重量
Table 4 Major organ weight of SD rats at approximately 18 weeks of age

(n=60)

脏器 Organ	指标 Index	雄性 Male	雌性 Female
心脏 Heart	称重/g	1.685±0.209	1.073±0.140***
	脏体比 (g/100 g)	0.316±0.026	0.364±0.035***
	脏脑比 (g/g)	0.781±0.093	0.534±0.066***
肝脏 Liver	称重/g	12.898±2.364	7.411±1.106***
	脏体比 (g/100 g)	2.402±0.221	2.505±0.198***
	脏脑比 (g/g)	5.978±1.080	3.686±0.488***
肺(含支气管) Lungs (with bronchi)	称重/g	1.869±0.247	1.359±0.131***
	脏体比 (g/100 g)	0.352±0.042	0.464±0.054***
	脏脑比 (g/g)	0.866±0.109	0.677±0.056***
脾脏 Spleen	称重/g	0.831±0.193	0.528±0.069***
	脏体比 (g/100 g)	0.156±0.033	0.18±0.022***
	脏脑比 (g/g)	0.385±0.090	0.263±0.033***
肾脏 Kidney	称重/g	3.247±0.442	1.837±0.298***
	脏体比 (g/100 g)	0.609±0.059	0.622±0.076
	脏脑比 (g/g)	1.505±0.198	0.913±0.136***
脑 Brain	称重/g	2.158±0.107	2.01±0.107***
	脏体比 (g/100 g)	0.41±0.054	0.688±0.080***
	脏脑比 (g/g)	/	/
胸腺 Thymus	称重/g	0.405±0.118	0.330±0.101***
	脏体比 (g/100 g)	0.076±0.020	0.111±0.027***
	脏脑比 (g/g)	0.188±0.054	0.165±0.049*
肾上腺 Adrenal gland	称重/g	0.0637±0.0103	0.0829±0.0864
	脏体比 (g/100 g)	0.0121±0.0025	0.0291±0.0360***
	脏脑比 (g/g)	0.0295±0.0045	0.0411±0.0414*
睾丸 Testis	称重/g	3.591±0.534	/
	脏体比 (g/100 g)	0.678±0.116	/
	脏脑比 (g/g)	1.662±0.236	/
附睾 Epididymis	称重/g	1.483±0.192	/
	脏体比 (g/100 g)	0.28±0.043	/
	脏脑比 (g/g)	0.687±0.083	/
子宫 Uterus	称重/g	/	0.727±0.235
	脏体比 (g/100 g)	/	0.249±0.087
	脏脑比 (g/g)	/	0.362±0.117
卵巢 Ovary	称重/g	/	0.1168±0.321
	脏体比 (g/100 g)	/	0.04±0.0115
	脏脑比 (g/g)	/	0.0583±0.0167

注: 雌性与雄性相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, 生殖器官未进行统计分析。

表5 组织病理学病变发生率
Table 5 Incidence of histopathological lesions

组织器官 Tissue and organ	异常所见 Abnormal finding	病变发生率/% Incidence of lesions/%	
		雄性/% Male/%	雌性/% Female/%
肾脏 Kidney	皮质/髓质/肾盂, 单核细胞浸润	45	30
	嗜碱性肾小管	33	10
	梗死	1.7	0
	透明管型	10	0
	慢性进行性肾病	0	1.7

续表

组织器官 Tissue and organ	异常所见 Abnormal finding	病变发生率/% Incidence of lesions/%	
		雄性/% Male/%	雌性/% Female/%
心脏 Heart	炎性细胞浸润或伴心肌细胞变性/坏死	40	5
	心肌病	5	3.3
肝脏 Liver	单形核细胞浸润	5	1.7
	肝细胞空泡变性	18.3	11.7
	小肉芽肿伴或不伴肝细胞坏死	68.3	68.3
脾脏 Spleen	红髓扩张	1.7	3.3
	色素沉着	0	15
	髓外造血	0	1.7
	淋巴滤泡减少	1.7	0
胸腺 Thymus	出血	10	6.7
	皮质, 淋巴细胞/易染体巨噬细胞数目增多	1.7	1.7
肺(含支气管) Lungs (with bronchi)	被膜/间质/血管周围, 炎性细胞浸润	6.7	10
	泡沫样巨噬细胞聚集	16.7	26.7
	肺泡上皮细胞增生	0	3.3
	骨化生	3.3	0
	出血	3.3	0
胰腺 Pancreas	外分泌部, 萎缩伴炎性细胞浸润	6.7	8.3
	胰岛, 纤维化	1.7	0
颌下淋巴结 Submandibular lymph nodes	红细胞增多/吞噬作用	1.7	1.7
	髓窦, 浆细胞增多	1.7	1.7
肠系膜淋巴结 Mesenteric glands	红细胞增多/吞噬作用	0	1.7
垂体 Pituitary gland	囊肿	8.3	0
胃 Stomach	腺腔扩张	3.3	1.7
颈部淋巴结 Cervical lymph node	髓质, 浆细胞增多	3.3	0
	红细胞增多/吞噬作用	0	1.7
	出血	5	1.7
肾上腺 Adrenal gland	皮质细胞空泡变性	3.3	0
前列腺 Prostate gland	间质, 单形核细胞浸润	21.7	0
甲状腺 Thyroid gland	滤泡增生	6.7	0
	间质, 单形核细胞浸润	0	1.7
睾丸 Testis	单侧或双侧, 生精小管萎缩	1.7	/
附睾 Epididymis	单侧或双侧, 精子减少	1.7	/
子宫 Uterus	色素沉着	/	1.7
	子宫腔扩张	/	8.3
卵巢 Ovary	/	0	0

3 讨论

SD大鼠是食品90 d喂养试验中常用的实验动物品系^[7],其各项生理指标与年龄、性别和环境因素等有关^[8]。本研究中动物均来自同一动物供应商,约5周龄(32 d)开始试验,观察3个月(约13周),此时动物周龄约18周(即4~5月龄)。研究数据显示动物体重增长平稳,生长发育情况无明显异常。本研究中SD大鼠的临床生化和血液学指标与2016年中国农业大学^[9]和2018年中山大学实验动物中心^[10]周龄相近的SD大鼠临床生化学指标较为一致。

动物体重、摄食量、血液学和血清生化和脏器重量等指标与动物的品系、性别、年龄及营养因素有关^[11],上述指标比较时需根据其上述特征进行分类。除受年龄和性别影响外,动物的各项生理指标也与其生活环境、营养水平和生理状况等因素有关^[12-13]。蒋荣荣^[14]研究发现改变大鼠饲养环境中的温、湿度、光照周期和光照强度均可导致SD大鼠血常规中RBC、HGB、MCH和MCHC改变,血清生化指标中ALT、AST、ALB升高,UREA、CREA、TG和GLU降低,但对动物脏器重量无明显影响。刘帅等^[15]研究发现,SD雄性大鼠在环境丰富的条件下(提供磨牙棒和木丝筑巢材料)摄食量显著增加,TP、ALB和CHO明显增加,雌性大鼠的RBC、HGB和PLT等数值明显增加。本研究中雄性大鼠体重增长显著高于雌性(90 d达500 g vs. 300 g),摄食量更高(25~28 g/d vs. 16~19 g/d),反映雄性代谢需求更高,可能与睾酮促进蛋白质合成相关。雄性RBC、HGB、HCT、PLT等指标显著高于雌性($P<0.05$),提示雄性造血功能更强或血容量更大;凝血参数(PT、APTT)的性别差异可能影响药物对凝血系统作用的评估。雄性ALT、AST、ALP、CK等肝酶及GLU、TG水平更高,可能与肝脏代谢活性或能量利用的性别特异性相关,需警惕药物对雄性肝脏的潜在毒性被高估。雄性尿pH范围更广(5.0~8.5 vs. 6.5~9.0),尿比重更低,提示肾功能性别差异;雄性脏器称重更高,但雌性脏器比更大,反映体重对脏器比例的调节作用。

本研究中,组织病理学检查发现的病变多为动物品系或年龄相关的背景性病变。肾脏嗜碱性肾小管属于一种非特异性变性,这种变化是退行性病变的结果或是细胞的更新再生过程,在发育中的青年大鼠属于正常现象,缺乏明显的基底膜增厚是其与慢性进行性

肾病(chronic progressive nephropathy, CPN)区别的关键点。CPN是常用试验大鼠品系的自发性肾疾病,其中Sprague-Dawley (SD)、Fischer 344品系慢性进行性肾病较Wistar、Brown-Norway (BN)更严重,氨基酸组成的改变以及肾小管周围基底的羟基化和糖基化,已被证实是大鼠CPN发生的重要原因之一。肾脏单形核细胞浸润可单独出现或与早期CPN相关,在皮髓质交界处或弓形动脉旁,可见自发性单形核细胞浸润,为常见背景性病变,几乎没有病理学意义,浸润灶的数量会随年龄的增加而增加。自发性心肌病可见于所有品系的大鼠,幼龄大鼠及雄性大鼠发生率更高,属于自发退行性病变,目前病因未知,可能严重程度和年龄、饮食及应激因素相关^[16]。此外,前列腺的炎症细胞浸润的发生率也随着动物年龄增长而增加^[17-18]。肝脏小肉芽肿和肺脏泡沫样细胞巨噬细胞聚集为啮齿类动物常见的背景性病变,可能与环境和饲料等因素有关^[19-20]。肝细胞空泡变性可能与饲料或与年龄增加有关的脂代谢改变有关^[21]。在考察受试物相关的病理学改变时应注意与上述病变进行区分。

实验动物的背景数据对于正确解释受试物引起的病变至关重要,对于区分实验动物的自发病变和诱发病变有重要参考价值,可以为安全性评价和动物模型的建立提供科学依据^[22]。日本Gotemba实验室在引入WIST (Wistar Hannover)大鼠进行研究时,对110只雄性和110只雌性WIST大鼠进行了2、4、13和26周的试验,以获得体重、摄食量、尿检查、血液学、血清生化、脏器重量和组织病理学等指标的参考区间^[23]。不同性别的SD大鼠在多项生理指标上存在统计学差异,这可能与不同性别大鼠的激素水平等有关^[24],也提示在食品90 d喂养试验中注意根据食品的作用特点选择合适性别的动物。

综上所述,本研究总结了国家药物安全评价监测中心SPF级SD大鼠在90 d试验期内的体重、摄食量、血液学、血清生化各项指标的背景参考值范围,并梳理了动物的背景性和自发性的组织病理学改变。本研究建立的SD大鼠生理、生化和病理背景数据库,为相关研究提供了标准化参考^[25]。通过明确性别差异,可指导异常结果的性别特异性分析。其中,性别差异数据强调需分性别设置对照组,避免因基线不同掩盖或夸大受试物效应。临床试验设计中应考虑动物模型的性别因素,合理分配受试者性别比例,提高动物实验结果外推至人类的可靠性。

[作者贡献声明 Author Contribution]

秦超:负责试验材料准备、在体试验操作、在体数据收集,参与原稿写作;

李双星:负责病理学检查与数据收集,参与数据分析与原稿写作;

赵婷婷:参与试验材料准备、在体试验操作和数据收集;

蒋晨晨:参与数据分析与原稿写作;

赵晶:参与在体试验操作与数据收集;

杨艳伟:参与试验材料准备、病理学检查与数据收集;

林志:参与病理学检查和项目支持;

王三龙:参与项目支持;

文海若:负责研究设计、项目支持、数据分析与原稿写作。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本试验方案实施前已经国家药物安全评价监测中心动物管理与使用委员会伦理审查批准(伦理批复编号:IACUC-2020-110、IACUC-2021-041、IACUC-2022-032、IACUC-2022-042、IACUC-2022-139、IACUC-2022-140)。研究中所有实验动物相关的操作严格遵守美国国家科学院实验动物资源研究所发布的《实验动物护理和使用指南》(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>)。

All animal experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) of the National Center for Safety Evaluation of Drugs (IACUC approval No. IACUC-2020-110, IACUC-2021-041, IACUC-2022-032, IACUC-2022-042, IACUC-2022-139, IACUC-2022-140). All experimental animal-related operations in the research strictly adhere to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the Institute of Laboratory Animal Resources of the National Academy of Sciences(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>).

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] ZHANG J, LIU Y H, LI S F, et al. A 90-day rodent feeding study with grain for genetically modified maize L4 conferring insect resistance and glyphosate tolerance[J]. Food Chem Toxicol, 2023, 176:113733. DOI: 10.1016/j.fct.2023.113733.
- [2] ZHAO Y, CHEN M M, LI Y, et al. A 90-day safety study of meat from *MSTN* and *FGF5* double-knockout sheep in wistar rats [J]. Life (Basel), 2022, 12(2):204. DOI: 10.3390/life12020204.
- [3] SMITH B L, CARLSON A B, FALLERS M N, et al. Rodent and broiler feeding studies with maize containing genetically modified event DP-915635-4 show no adverse effects on health or performance[J]. Food Chem Toxicol, 2024, 189: 114716. DOI: 10.1016/j.fct.2024.114716.
- [4] ZHOU Q H, LI S F, ZHAO M, et al. A 90-day feeding study of genetically modified maize LP007-1 in wistar Han RCC rats[J]. Food Chem Toxicol, 2023, 180: 114026. DOI: 10.1016/j.fct.2023.114026.
- [5] SUN N N, LIANG C L, ZHANG Q N, et al. Safety assessment of phytase transgenic maize 11TPY050 in Sprague-Dawley rats by 90-day feeding study[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2022, 128:105091. DOI: 10.1016/j.yrtph.2021.105091.
- [6] 李国华, 席小平, 贾继峰, 等. Wistar大鼠主要脏器系数与体重相关性的探讨[J]. 山西医药杂志, 2005, 34(8): 661-662. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2005.08.021.
LI G H, XI X P, JIA J F, et al. Correlation between main organ coefficients and body weight in Wistar rats[J]. Shanxi Med J, 2005, 34(8): 661-662. DOI: 10.3969/j. issn. 0253-9926.2005. 08.021.
- [7] CHEN C, SHI L L, MAO H M, et al. Safety assessment of transgenic maize CC-2 by 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats[J]. Toxicol Res, 2024, 13(2): tfae025. DOI:10.1093/toxres/tfae025.
- [8] 胡雄飞, 杨秀鸿, 陈志莲. 不同周龄雌雄SD大鼠血液生理生化指标比较分析[J]. 实用预防医学, 2013, 20(10):1173-1176. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2013.10.007.
HU X F, YANG X H, CHEN Z L. Comparison of the blood physiological and biochemical indicators among SD rats of different ages and genders[J]. Pract Prev Med, 2013, 20(10): 1173-1176. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2013.10.007.
- [9] 郎天琦, 邹世颖, 侯曼, 等. SD大鼠90d喂养试验生理生化指标正常参考值的研究[J]. 中国兽医杂志, 2016, 52(12):99-101.
LANG T Q, ZOU S Y, HOU M, et al. Study on the normal reference interval of hematological and serum biochemical indexes in 90d feeding study on SD rats[J]. Chin J Vet Med, 2016, 52(12):99-101.
- [10] 张薇, 唐彬, 付新录, 等. 不同月龄SPF级SD大鼠临床生理生化背景数据分析[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(1):5-10. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2018.01.002.
ZHANG W, TANG B, FU X L, et al. Analysis of the background data of hemocytology and biochemistry in the blood of SPF Sprague Dawley rats at different ages[J]. J Trop Med, 2018, 18 (1):5-10. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2018.01.002.
- [11] HOJO M, SAKAMOTO Y, MAENO A, et al. A histopathological analysis of spontaneous neoplastic and non-neoplastic lesions in aged male RccHan: WIST rats[J]. J Toxicol Pathol, 2020, 33(1):47-55. DOI: 10.1293/tox.2019-0064.
- [12] BOCKENSTEDT M, KUMAR A, LAASST V, et al. Historical control background incidence of spontaneous nonneoplastic lesions of sprague dawley rats in 104-week carcinogenicity studies[J]. Toxicol Pathol, 2025, 53(2): 173-186. DOI: 10.1177/01926233241289116.
- [13] KUMAR A, BOCKENSTEDT M, LAASST V, et al. Historical control background incidence of spontaneous neoplastic lesions of sprague-dawley rats in 104-week toxicity studies[J]. Toxicol Pathol, 2023, 51(6): 329-356. DOI: 10.1177/01926233231224466.
- [14] 蒋荣荣. 温湿度等环境因素对SD大鼠福利的影响研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
JIANG R R. Effects of environmental factors such as temperature and humidity on the welfare of SD rats[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2014.

- [15] 刘帅, 李军延, 陈巍, 等. 环境丰富对SD大鼠生长和血液学指标的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(1):41-47. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2015.06.008.
- LIU S, LI J Y, CHEN W, et al. Effect of environmental enrichment on growth and hematology in SD rats[J]. Lab Anim Comp Med, 2016, 36(1):41-47. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2015.06.008.
- [16] KAWAGUCHI K, ASAI A, MIKAWA R, et al. Age-related changes in lung function in National Center for Geriatrics and Gerontology Aging Farm C57BL/6N mice[J]. Exp Anim, 2023, 72(2):173-182. DOI: 10.1538/expanim.22-0109.
- [17] TRUJILLO-ROJAS L, FERNÁNDEZ-NOVELL J M, BLANCO-PRIETO O, et al. The onset of age-related benign prostatic hyperplasia is concomitant with increased serum and prostatic expression of VEGF in rats: Potential role of VEGF as a marker for early prostatic alterations[J]. Theriogenology, 2022, 183:69-78. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.01.014.
- [18] TRUJILLO-ROJAS L, FERNÁNDEZ-NOVELL J M, BLANCO-PRIETO O, et al. Rat age-related benign prostate hyperplasia is concomitant with an increase in the secretion of low ramified α -glycosidic polysaccharides[J]. Theriogenology, 2022, 189:150-157. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.06.011.
- [19] COOPER T K, MEYERHOLZ D K, BECK A P, et al. Research-relevant conditions and pathology of laboratory mice, rats, gerbils, guinea pigs, hamsters, naked mole rats, and rabbits [J]. ILAR J, 2021, 62(1-2):77-132. DOI: 10.1093/ilar/ilab022.
- [20] ISOBE K, BAILY J, MUKARATIRWA S, et al. Historical control background incidence of spontaneous pituitary gland lesions of Han-Wistar and Sprague-Dawley rats and CD-1 mice used in 104-week carcinogenicity studies[J]. J Toxicol Pathol, 2017, 30(4):339-344. DOI: 10.1293/tox.2017-0030.
- [21] MCINNES E F, SCUDAMORE C L. Review of approaches to the recording of background lesions in toxicologic pathology studies in rats[J]. Toxicol Lett, 2014, 229(1): 134-143. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.06.005.
- [22] MENSSEN M. The calculation of historical control limits in toxicology: Do's, don'ts and open issues from a statistical perspective[J]. Mutat Res Toxicol Environ Mutagen, 2023, 892: 503695. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2023.503695.
- [23] OKAMURA T, SUZUKI S, OGAWA T, et al. Background data for general toxicology parameters in RccHan: wist rats at 8, 10, 19 and 32 weeks of age[J]. J Toxicol Pathol, 2011, 24(4):195-205. DOI: 10.1293/tox.24.195.
- [24] LEDESMA-CORVI S, JORNET-PLAZA J, GARCÍA-FUSTER M J. Aromatase inhibition and ketamine in rats: sex-differences in antidepressant-like efficacy[J]. Biol Sex Differ, 2023, 14(1):73. DOI: 10.1186/s13293-023-00560-5.
- [25] 赵曼曼, 梁子禾, 刘晓萌, 等. SD大鼠胚胎-胎仔发育毒性试验背景数据的建立[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2024, 38(7):526-532. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2024.07.006.
- ZHAO M M, LIANG Z H, LIU X M, et al. Background data of SD rats in embryo-fetal development toxicity study[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2024, 38(7): 526-532. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2024.07.006.

(收稿日期: 2024-12-17 修回日期: 2025-04-17)

(本文责任编辑: 陈毅)

[引用本文]

秦超, 李双星, 赵婷婷等. SD大鼠90 d喂养试验的历史背景数据[J]. 实验动物与比较医学, DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024-187.

QIN Chao, LI Shuangxing, ZHAO Tingting, et al. Historical Background Data of 90-day Feeding Study in SD Rats[J]. Laboratory Animal and Comparative Medicine, DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024-187.