



63 周龄 C57BL/6J 老龄鼠

用于研究老龄化疾病的 C57BL/6J 老龄鼠

考量因素和使用规范

由于小鼠与人体在遗传机理和生理表征上的相似性，小鼠模型被广泛用于人体衰老医学研究。人体衰老研究周期冗长，需要多种资源和提前规划。美国杰克森实验室 (JAX) 为全球的研究者们提供 78 周龄的雄性和雌性 C57BL/6J 老龄鼠用于研究人体老龄化疾病。本文旨在为老龄鼠新用户及相关研究者们提供信息资源。我们将概述需要特别考虑的因素，以及如何最大限度地从老龄鼠收集数据和提高其转化医学价值。我们在此还将强调相关的使用操作规范。

| 导言：老化 vs 衰老

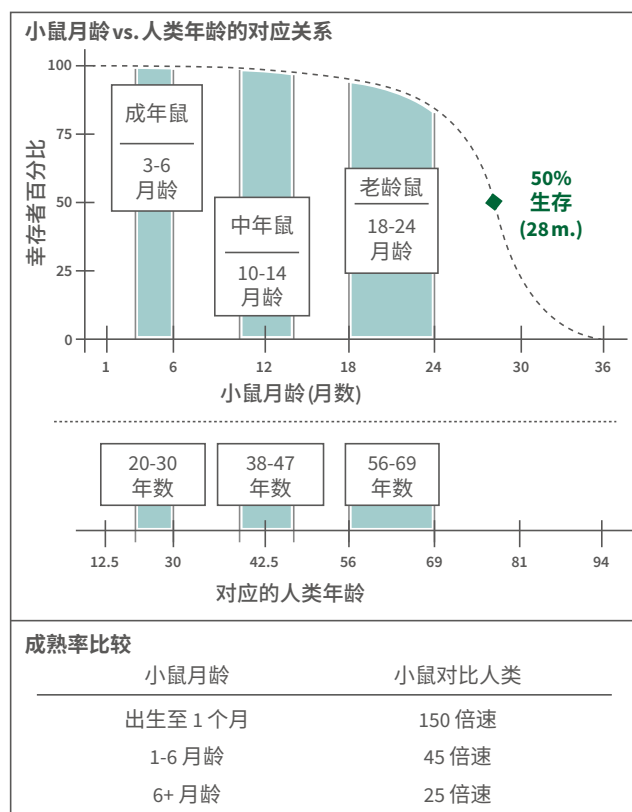
人体各种疾病的发病率与人的年龄成正比，例如癌症、心脏病、关节炎、骨质疏松症和认知能力下降等。虽然人们经常混用‘老化’和‘衰老’这两个术语，但它们是存在差别的。广义地讲，老化包括人生历程中发生的所有生物学变化，从婴儿期、儿童期和青春期的发育关键节点，到生命后期发生的所有变化。衰老是指在老年人中存在的正常生理功能丧失的现象，具有渐进性和时间依赖性，例如肌肉萎缩、更年期、听力视力丧失、头发灰白和皮肤弹性丧失。一些与年龄相关的变化会通过致病因素（例如感染，严重压力或遗传易感性）的相互作用来导致异常损伤、或造成与年龄相关的疾病。人们对寿命的调控机制和增加健康生命周期的期望和兴趣越来越大，因此这些语义上的细微差别对衰老假设的提出、老龄化研究的设计及实验结果的解释都是至关重要的（Flurkey, Curren, and Harrison 2007）。

| 小鼠月龄与人类年龄的对应关系

JAX® 科研人员经常被问及的一个问题是：

月龄多少的实验小鼠才被认为是‘老龄鼠’？

图 1 给出了小鼠月龄与人类年龄的对应关系。该图是基于美国杰克森实验室 Dr. David Harrison 及其同事的研究工作总结而来的（Flurkey, Curren, and Harrison 2007）。数据来自150只雄性和150只雌性C57BL/6J小鼠群，它们被分成三个年龄段：成年鼠、中年鼠、老龄鼠。



[图 1]

C57BL/6J 小鼠月龄与人类年龄的对应关系。（改编自图 20-3: Flurkey, Curren, and Harrison, 2007. “生物医学研究中的老鼠”，James G. Fox 版本，美国实验动物医学系列（Elsevier, AP: Amsterdam; Boston））

成年鼠：3-6 月龄

成年鼠是考察所有衰老变化的基准对照组。该组小鼠已经发育完全但尚未受到衰老的影响。成年鼠年龄至少为3个月，尽管小鼠的性成熟在35天左右，但其生理快速生长期会持续到3个月左右。成年鼠的月龄上限为6个月。过了该月龄段，小鼠会出现一些与月龄相关的变化。例如，由于产仔数减少，6-8个月年龄的小鼠通常不再适于用作繁殖群体。一种长期稳定的生物标识物可以检测出在成年鼠中是否包含老龄鼠，而我们研究的生物学过程或系统可以为选择标记提供信息。

中年鼠：10-14月龄

中年鼠的衰老变化可以通过一部分与老龄化相关的生物标志物来进行检测。中年鼠可以帮助确定与年龄相关的变化是渐进性的，还是仅在老年时才出现。中年鼠至少10个月大。中年鼠的月龄上限约为14-15个月，此时大多数生物标志物正在发生变化。

老龄鼠：18-24月龄 (或更老, 取决于小鼠品系)

老龄鼠的衰老变化几乎可以通过所有的生物标志物检测到。老龄鼠应至少18个月大。对于C57BL/6J小鼠和许多其它近交系小鼠，老龄鼠的月龄上限约为24个月。然而，小鼠品系特异性疾病，会影响生物标志物从而产生误导性的评估结果。随着小鼠年龄的增长，尸检解剖和组织病理评估对于准确解释数据至关重要。

| 老龄鼠的研究应用

雄性和雌性老年鼠群组及其器官组织都可以随时订购得到，这将节省实验室自建动物房的花费，缩短获得实验结果的时间，还可以减少由于机会性病原体感染、或由于动物房健康条件不达标所造成的意外损失。

两性小鼠数量同等的库存，符合NIH的确保研究同时考虑雌性和雄性的政策。请注意：美国联邦行业监管机构的“最佳规范”指出，需要用两性的动物数据来预测人体的相关情况 [Clayton and Collins 2014; Bolon et al.2010]。

因此，提高 C57BL/ 6J 老年鼠资源的获取便捷度将有利于使用多种遗传背景老龄鼠的医学研究，这些研究包括但不限于以下领域：

小鼠月龄与健康生命周期的基础生物学

认知、行为与睡眠

骨密度、骨质疏松、骨质减少

肌肉质量，肌肉减少症

新陈代谢

身体成分，饮食，运动

心血管疾病

生殖生物学

年龄相关的免疫功能变化和伤口修复能力变化

年龄相关的听力损失

上述研究领域相关参考文献的详细阐述，超出了本文的范围。请您访问以下讯息资源网站，了解有关老龄化生物学研究资助计划的更多信息：

The National Institute on Aging
<https://www.nia.nih.gov/>

American Federation for Aging Research
<https://www.afar.org/research/funding/>

“正常”的老齡化表型定义 以及相关的资源库

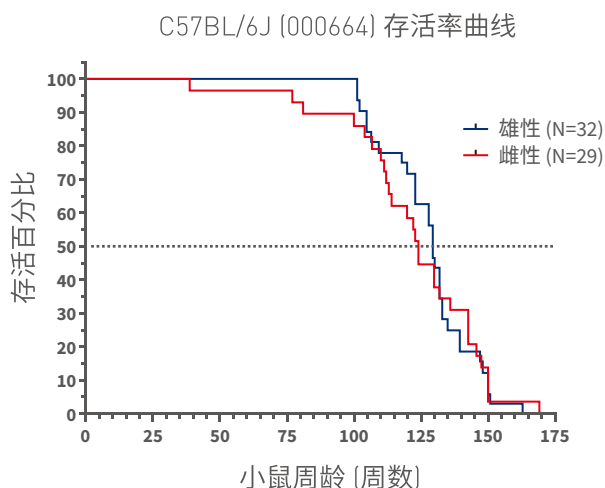
JAX® 科研人员经常被问及的另一个问题是：

什么是小鼠的“正常”表型？

您首先需要知道什么是“正常”，才能确认实验结果是否有异常。要知道什么是“正常”的最佳方法是请教相关专家，查阅正确的资料，或在实验中包含适当的对照组，例如使用同代鼠群作对照组，这些对照小鼠不存在所要研究的突变，和/或者未经实验处理。所有老齡化研究都需要由经过训练合格经验丰富的操作人员进行病理学检测分析，这一点不容忽视 (Ward 2002; Schofield et al.2009; Treuting et al.2016; Ladiges et al.2013)。在使用老齡鼠进行研究时，如果没有病理学专家对整个研究进行细致的规划，实施和整体监管，那么即使研究结果发表在高影响因子杂志上，其结论也可能存疑。(Ward, Schofield, and Sundberg 2017)。恰当的路理学知识的支持可极大地提高衰老研究的转化医学相关性，准确性和可重复性 (Brayton, Treuting, and Ward 2012; Bolon et al.2008; Bronson and Lipman 1993)。

雄性和雌性 C57BL/6J 成年鼠 (3-4 月龄) 是《小鼠和人类图谱》(Comparative Anatomy and Histology: a Mouse and Human Atlas (Treuting, Dintzis, et al.2012)) 使用的标准小鼠。其中列出了所有器官系统的正常组织学外观，以及诸如表型和解剖结构等专题，同时每章都列出了相关的“深度阅读”参考文献。专门研究小鼠的兽医病理学家经常会发表一些评论和研究文献，这些评论和文献对于那些刚接触到小鼠的科研人员和已长期接触小鼠，但仍想了解新知识的人来说，都是特别有用的 (Sellers 2017, 2012; Bolon et al.2012; Sundberg, Ward, and Schofield 2009; Barthold 2002; Sellers et al.2012; Sellers and Ward 2012; Treuting, Clifford, et al.2012)。

关于小鼠“正常”表型的另一个重要数据资源是 The Mouse Phenome Database (<http://phenome.jax.org/>)。该数据库汇集了各种小鼠品系的标准化测量数据 (Maddatu et al.2012)。数据采集量最多的品系是 C57BL/6J。美国杰克森实验室 (JAX) 老化基础生物学 Nathan Shock 中心也在 The Mouse Phenome Database 数据库中存放了若干表征老齡化表型的数据资源，以便加速推进老齡化过程的遗传分析，帮助鉴定寿命调控的遗传位点。这些数据还可以揭示寿命与年龄相关疾病易感性的重要相关性，发现影响小鼠与人寿命及衰老表型的共同基因座 (Bogue et al.2016)。该数据库还包含了具有生存曲线的寿命数据，如图 2 中 C57BL / 6J 所示，数据库中的相关数据名为“Yuan2” (Yuan et al.2007; MPD:Yuan2)。



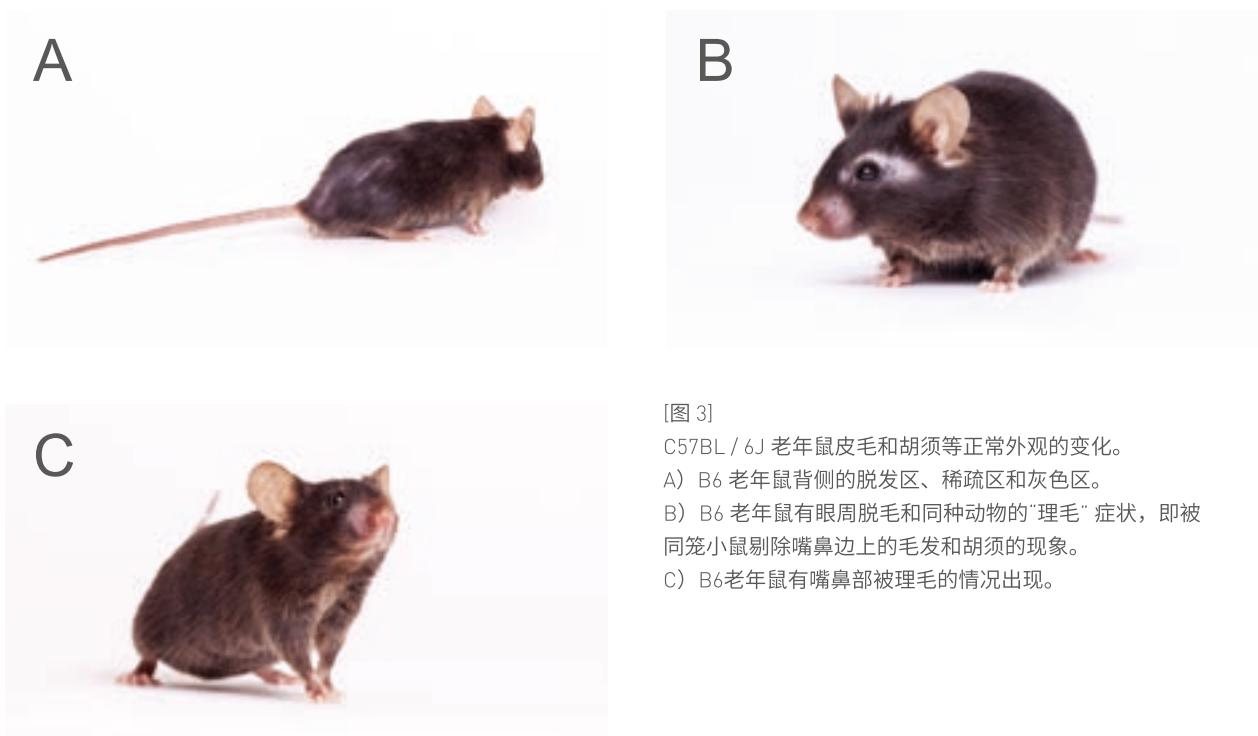
[图 2]
C57BL/6J 小鼠的存活率曲线。Mouse Phenome数据库中提供的数据 (Yuan et al.2007)。数据来自美国杰克森实验室 Nathan Shock Aging Center。

小鼠基因组信息学 (MGI) 网站 (www.informatics.jax.org)，整合了超过25年的小鼠研究数据，涵盖了遗传学，基因组学和生物学数据 [Eppig et al.2017]。MGI是小鼠新基因命名和小鼠品系命名的主要参考网站。小鼠基因和品系的规范化命名在实验结果共享和大数据分析已成为科学研究重要方法的时代显得尤为重要，“不遵循标准的命名规则会导致实验数据的混淆和误导，某些情况下还会导致虚假错误的科学发现” [Sundberg and Schofield2010]。

我们也可以在病例报告或调查数据 (特异/异常的临床表现) 中找到附注的小鼠“正常”表型数据。通常作为对照组的数据代表了正常情况下的参考范围，例如在下文中将探讨的关于C57BL / 6J老龄鼠的常见健康问题部分中描述的数据。当然，这些范围仅能作为“正常”表型的参考。理想的“正常”对照组应是同一动物房内性别和年龄匹配的同窝小鼠，这将使研究人员能够区分表型是来自治疗效果还是环境因素。

环境影响可能是小鼠“正常”表型产生变化的一个重要但尚未被充分认识的因素。(该问题将在本文最后一节讨论。) 因此，研究人员必须了解实验小鼠在各自的原产繁育房里的表现，并按照符合“动物研究操作指南(NC3Rs)”的程序来进行数据采集及结果分析。这些指南被推荐作为学术界的最佳实验操作规范 (即使某些期刊并未强制要求)，这有利于报告动物实验结果的完整性、准确性和透明性 [Baker et al.2014; Kilkenny et al.2010]。

最后，研究者们也可以从JAX网站查看“B6老龄鼠”的表型数据详情 (www.jax.org/aged-b6)。图 3 显示了老龄鼠与年轻鼠在外观上的不同。随着年龄的增长，小鼠被毛会变薄，呈灰色或棕色。此外，可能存在脱毛现象 (alopecia)，这可能是由于小鼠自身或同伴对其被毛的过度梳理。被另一只小鼠过度梳理毛发产生的脱毛现象被称为理毛 (barbering)。虽然这是小鼠的正常社交行为，但其对小鼠外观表型还是产生了一定的影响。理毛也可以导致鼠嘴鼻处胡须的脱落。



[图 3]
C57BL / 6J 老年鼠皮毛和胡须等正常外观的变化。
A) B6 老年鼠背侧的脱发区、稀疏区和灰色区。
B) B6 老年鼠有眼周脱毛和同种动物的“理毛”症状，即被同窝小鼠剔除嘴鼻边上的毛发和胡须的现象。
C) B6老年鼠有嘴鼻部被理毛的情况出现。

您可以在 JAX® 的网站上找到 B6 老龄鼠的各种表型数据 (www.jax.org/aged-b6)。

正在进行的质量控制相关研究对以下数据进行采集：

器官重量

血液学

通过双能 X 射线吸收测定法 (DEXA 或 DXA) 测量的骨矿物质密度

血清化学特征

流量细胞计数

这些由 JAX® 采集的最新数据也可以从上述的网页链接下载。研究人员应该意识到，不同繁育动物房之间的环境因素差异可以改变小鼠表型，请参考本文最后一节，获得有关这些变异来源的更多详细信息。

除了需要小鼠“正常”表型数据，用于鉴定小鼠表型的各种方案和方法也是研究者感兴趣的。JAX® 网站和一些在线数据库均会提供一些实验方法，这些数据库包括 Mouse Phenome Database (<http://phenome.jax.org/>) 和 IMPReSS (International Mouse Phenotyping Resource of Standardized Screens) (<https://www.mousephenotype.org/impress>)。

在已发表的文献中通常会包含与采集小鼠表型数据相关的大量参考文献，如老化研究 (Ackert-Bicknell et al.2015)，尸检解剖与病理组织学 (Treuting and Snyder 2015; Schofield, Gruenberger, and Sundberg 2010; Schofield et al.2012;Bolon et al.2008)，衰老及病理学 (Brayton, Treuting, and Ward 2012; Snyder, Ward, and Treuting 2016; Ward, Youssef, and Treuting 2016)。系统性研究方法有时可以在一些专题研究中获得，比如皮肤学 (Silva, Kennedy, and Sundberg 2014) 或特定器官的病理学，如乳腺，前列腺或造血系统 (Cardiff et al. 2000; Shappell et al. 2004; O'Connell et al. 2015)。全面的表型数据采集和分析方法综述已经超出了本文的讨论范围，如有需求，我们建议读者们进行系统的文献调研并咨询相关专家以确保您的实验设计能给您提供最佳的实验数据结果。

| C57 BL/6J 老龄鼠常见的疾病症状

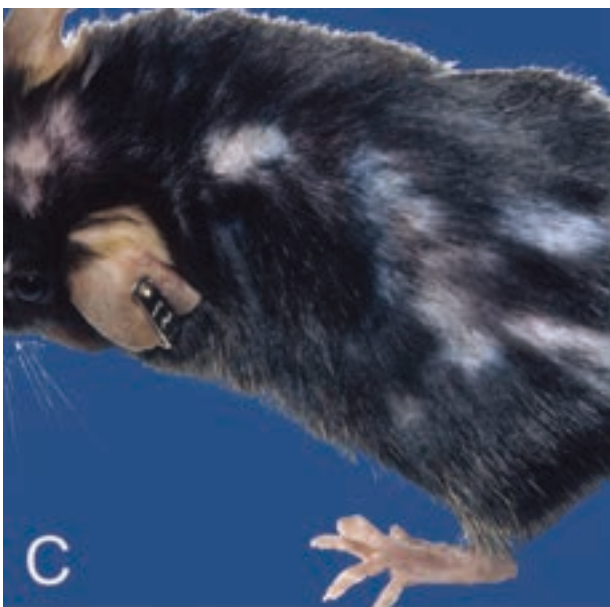
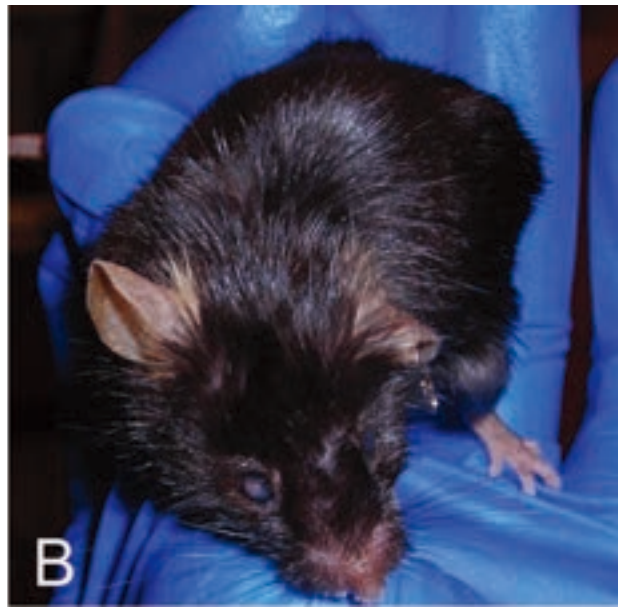
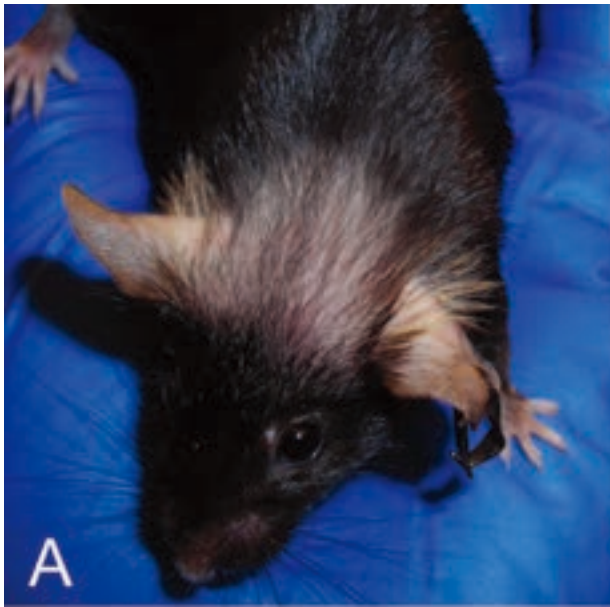
老龄化研究实验设计的一个重要部分是决定小鼠生命终期和人道主义的研究终点。理想情况下终点的选择应是既可减轻小鼠的痛苦，同时最大限度地减少对寿命数据的影响，并允许及时收集组织样本 (Brayton, Treuting, and Ward 2012)。在小鼠出现严重健康问题之前与动物护理和使用委员会以及兽医支持人员合作，也可以减轻科研人员的苦恼。

小鼠安乐死的标准包括了下述几种会导致小鼠在 24 小时内死亡的临床标志性症状：

- 1) 对触摸无反应，
- 2) 触摸到体温冰冷，
- 3) 呼吸缓慢或困难，
- 4) 驼背，披毛杂乱
- 5) 身体状况指标不佳 (Brayton, Treuting, and Ward 2012; Ullman-Cullere and Foltz 1999)。

华盛顿大学 (UW, University of Washington) 使用 C57BL6/J 老龄鼠群进行了一项独立研究, 观察在其动物房中饲养的 16-36 月龄的雄性和雌性 B6J 最常见的临床症状。四种常见的老龄鼠临床表现为: 1) 直肠脱垂, 2) 脱毛和皮炎, 3) 眼部病变, 4) 可观察到的肿块 (Pettan-Brewer 和 Treuting 2011)。常见的皮肤和眼部异常如图 4 所示。关于肿瘤性疾病的尸检解剖和组织病理学的观察数据见表 1 (百分比为患有肿瘤性疾病的小鼠所占比率)。非肿瘤性疾病结果显示在表 2 中 (除非另有说明, 百分比是在具有任何非肿瘤诊断的小鼠中的比率)。

对老龄鼠护理不熟悉的兽医工作人员将得益于参加预期异常症状观察的培训。有明显异常症状的小鼠可能会被报告为“生病”; 然而, 并非所有异常症状都会导致严重的痛苦或危及小鼠生命。重要的是事先与兽医工作人员合作, 制定管理预期健康问题的计划。



[图 4]
C57BL/6J 老龄鼠皮肤和眼部病变是常见临床表现。

A) 临床正常的 28 月龄雌性 B6 老龄鼠, 健康状况相对较好, 头部轻度脱毛, 眼睛正常, 毛发光滑。

B) 28 月龄的雌性 B6 老龄鼠, 毛发没有被充分梳理, 有驼背姿势和角膜不透明。与 4A 中描述的小鼠相比, 老龄鼠的鼻子形状更为细长, 也更瘦。这只小鼠后来被诊断出长出垂体腺癌。

C) 月龄不明的 B6 老龄鼠中度片状脱发 (经 Pettan-Brewer 和 Treuting 2011 许可转载)。

肿瘤疾病	器官部位	% 小鼠患有
纤维肉瘤	子宫, 皮肤, 肾周围, 耳朵	4
血管瘤	脾	1
血管肉瘤	脾、子宫、卵巢、肝脏、皮肤	4
造血器官肿瘤 (恶性淋巴瘤或组织细胞肉瘤)	系统的	67
肝腺瘤	肝	1
平滑肌肉瘤	精囊, 结肠	3
恶性嗜铬细胞瘤	肾上腺的	1
骨肉瘤	脊椎	1
卵巢颗粒细胞瘤	卵巢	1
垂体腺癌	垂体	1
垂体腺瘤	垂体	6
垂体腺癌	肺	3
肺腺瘤	肺	1
鳞状细胞癌	皮肤	1
鳞状乳头状瘤	胃	3
睾丸间质细胞腺瘤	睾丸	1

备注: 16-36 月龄老龄鼠的临床数据、尸检解剖和病理组织学检测结果。患有肿瘤的老龄鼠百分比率报告 (N = 72; 雄性= 26, 雌性= 46)。

[表 1]

华盛顿大学对 C57BL/6J 老年鼠群的肿瘤疾病亚临床观察结果 (非 JAX 数据)。数据指的是患有肿瘤的老年鼠数目, 不是整个群体的老年鼠总数。(经 Pettan-Brewer 和 Treuting 2011 许可转载)

非肿瘤性疾病	器官部位	% 小鼠患有
嗜酸性巨噬细胞肺炎	肺	13
肾小球淀粉样蛋白	肾	41
肠淀粉样蛋白	小肠	14
胆道增生	肝	3
白内障或角膜混浊	眼	30
慢性梗塞	肾	4
囊性子官内膜增生症	子宫	14
心脏病变 ^a	心脏	97
肝囊肿	肝	3
肾积水 ^b	肾	19
肾病	肾	100
卵巢萎缩	卵巢	6
卵巢囊肿	卵巢	3
多动脉炎	体动脉	10
包皮囊性腺炎	包皮腺	3
直肠脱垂 ^b	直肠	19 ^c
精囊炎, 囊性变性	精囊	17
皮肤损伤 ^b	皮肤	17
系统性抗原刺激	多数主要器官	60
睾丸变性	睾丸	19
溃疡性角膜炎	眼	13

备注: 16-36 月龄老龄鼠的临床观察数据、尸检解剖和病理组织学检测结果。患有肿瘤的老龄鼠百分比率报告 (N = 72; 雄性= 26, 雌性= 46)。

a 包括心脏肥大, 心肌病, 动脉硬化, 瓣膜病变和淀粉样变性。

b 在笼里或尸检解剖时诊断。

c 老龄鼠总数, N = 711。

d 包括皮炎和脱发。

[表 2]

华盛顿大学对 C57BL/6J 老龄鼠群的非肿瘤疾病亚临床观察结果 (非 JAX 数据)。数据指的是患有非肿瘤疾病的老年鼠数目, 不是整个群体的老年鼠总数。(经 Pettan-Brewer 和 Treuting 2011 许可转载)

Pettan-Brewer 和 Treuting 介绍了一些针对衰老给小鼠造成的机能衰退、孱弱和慢性疾病等造成的痛苦相关的动物福利。

“高效的小鼠老龄化疾病研究项目包括研究人员、饲养人员、兽医人员、以及动物护理使用委员会成员之间协同合作和对他们的教育培训。这种协作努力对于人道地护理老龄鼠和防止非致命疾病的过度审查至关重要。教育培训的主要目的是逐渐熟悉老龄鼠在尸检解剖和组织病理学上的临床表现。这些基础知识对于确定人道的小鼠生命终点，确定健康寿命期，探索死亡的原因都非常重要。本文的目的是向研究者介绍小鼠的临床表现和病理评估，以及老龄化疾病的病理变化模式 (Pettan-Brewer and Treuting 2011) 。”

图 5 是华盛顿大学(UW) 在 C57BL / 6J 老龄鼠群观察到的慢性炎症的组织病理变化。完整的组织病理检查通常能收集到比预期和在尸体解剖时观察得到的更多的临床病理变化。我们鼓励读者阅读原始参考文献中的相关数据和讨论以获得更多关于 C57BL / 6J 老龄鼠的临床表现及病因差异。

请注意，JAX 观察到的老龄鼠病变与 UW 观察到的不同。这很可能是因为 JAX® 的老龄鼠平均年龄比 UW 的小，并且健康状态有所不同。在 JAX 老龄鼠群体中，有时会观察到溃疡性皮炎和肾积水，以及嗜酸性巨噬细胞性肺炎，多动脉炎和淋巴瘤（非常罕见）的低发病率。这些差异表明不同的表型和病理变化与动物的年龄、性别、不同的环境因素以及不同的实验流程相关。

对 C57BL/6（不仅仅是 J 亚品系）小鼠的长期研究表明，老龄鼠最常见的病变包括肾病，肾小球肾炎，嗜酸性巨噬细胞肺炎，脓肿，小鼠溃疡性皮炎，心肌病，脂肪肝，淋巴结，睾丸萎缩，卵巢萎缩，卵巢囊肿，垂体囊肿，肾上腺色素沉积，以及淋巴瘤等 (Brayton, Treuting, and Ward 2012) 。表 3 列出了其他在老龄啮齿动物组织学中观察到的意外损伤的实例（近交系小鼠的所有品系，不仅仅是 C57BL/6J）。此外还有很多其他可用于研究或病理学诊断的资源，它们对于研究 C57BL/6 以及其他小鼠品系在整个生命周期的常见自发性病变有重要参考价值 (Barthold 2002; Sundberg et al.2016; Begley et al.2012; Brayton 2007; Ward, Youssef, and Treuting 2016; Ward 2000; Barthold, Percy, and Griffey 2016)。

用小鼠研究老龄化病变的关键要素总结如下：

无论采用何种实验处理，背景病变都无法避免，相关病理特征也会发展。

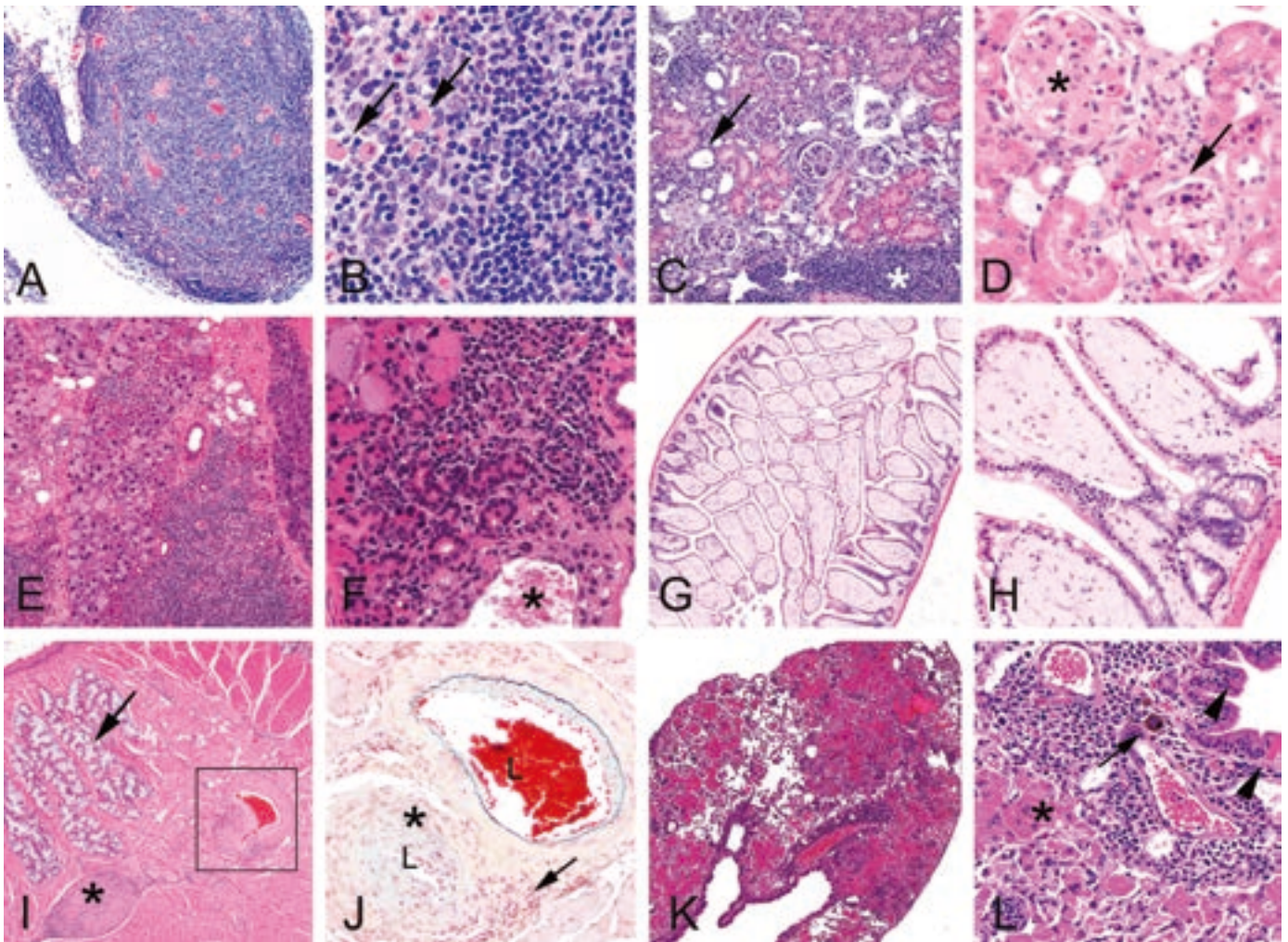
在使用老龄鼠的研究方案中应考虑并解决以下几点：

使用老龄鼠的研究人员、兽医人员和饲养人员须清楚了解老龄鼠的正常衰老及疾病症状。

提前准备确定小鼠生命终点的指导规则至关重要。

实验组和对照组的样本数量应包含适当的缓冲冗余。当在某些情况下需要将部分小鼠从研究中取出时，缓冲冗余的小鼠可以保持整个实验的统计学意义（即，根据模型和环境考虑额外 10-20% 或更多的小鼠，需要超过显著性分析所需的最小值）。

老龄疾病的病理学表型可能会随环境因素而变化（见下一节）。



[图5] 华盛顿大学 (UW) 对 16 - 36 月龄 C57BL/6J 老龄鼠的慢性全身炎症相关病变的临床组织学观察结果。图片经 Pettan-Brewer 和 Treuting (2011) 许可使用。

- A) 增生性肠系膜乳状斑。
- B) 图片A的高倍放大。斑点含有大小淋巴细胞，浆细胞和 Mott 细胞 (箭头)。
- C) 慢性肾脏损害的低放大率图像。间质淋巴聚集 (*) 和肾小管扩张 (箭头) 伴退化、再生、坏死和膜性肾小球肾病。
- D) 增厚的肾小球系膜基质 (*) 和周围纤维化 (箭头) 表征膜性肾小球肾病。肾小球淀粉样变性也应考虑。
- E) 慢性腺炎发生在许多腺体，包括眶外泪腺。
- F) E. Lymphoplasmacytic 炎症的放大倍数较高会破坏腺体结构。注意扩张的导管 (*)。
- G) 淀粉样蛋白在小肠绒毛中积累。
- H) 图片 G 的较高放大倍数。固有层中浅粉红色同质细胞外物质 (淀粉样蛋白) 的积聚扩大了绒毛。
- I) 舌根部的横截面与多动脉结节性动脉炎 (框和*)。舌小唾液腺被标出 (箭头)。
- J) 图片 I 中舌动脉 Movat's 五色染色法。受影响的节段 (*) 缺乏弹性薄层 (黑色细线)，并且平滑肌细胞扩张介质。轻度至中度血管周围慢性炎症细胞 (箭头) 和 LuMeNA (L)。类似的内耳和中耳附近的坏死性增生性动脉炎可能导致神经学症状 (参见原始参考资料中的详细信息)。
- K) 嗜酸性巨噬细胞肺炎 (AMP) 严重影响肺。
- L) AMP 的高倍镜显示组织内结晶物质 (*) 和致密的血管周围和支气管周围淋巴浆细胞性炎症，这在严重病例中经常出现。铁血黄素噬菌体 (箭) 和透明呼吸上皮 (箭头) 被标出。

啮齿动物身体系统	症状实例
视觉神经系统	白内障 角膜溃疡 慢性角膜炎 Harderian腺腺瘤
中枢神经系统	脑矿化、脂褐素积累
皮肤和皮下组织	脱毛 轻度皮炎
生殖系统	精囊, 凝固腺和包皮腺扩张 睾丸变性/萎缩 囊性子官内膜增生症 子宫息肉 卵巢萎缩 卵巢囊肿
内分泌系统	甲状腺囊肿 肾上腺包膜下梭形细胞增生
肝胆脾脏系统	肝细胞核巨细胞瘤与巨细胞瘤 胆道增生 肝囊肿 轻度透明变性胆囊上皮
心脏血管系统	内/肌/心外膜矿化
呼吸系统	轻度透明质酸呼吸上皮 肺泡巨噬细胞轻度积聚
胃肠道系统	轻度透明质酸消化道上皮 轻度直肠急性脱垂

[表 3]
老年啮齿动物的衰老退化和炎症病变的实例。列表中的症状并非 C57BL/6 小鼠家族独有 (Snyder, Ward, and Treuting 2016)。

影响数据可重复性的因素

数据的可重复性已成为人们关注的重要问题，不可重复的数据可能导致公众对科学失去信任，浪费宝贵的研究资源，严重影响人们对改善人类健康所需知识的获取 (Freedman, Cockburn, and Simcoe 2015; Baker 2016; ‘Reality check on reproducibility’ 2016)。目前研究中出现的“可重复性危机”进一步强调了 ARRIVE 动物研究报告指南的必要性和价值 (Kilkenny et al.2010)。研究界必须就系统化、标准化的方法达成一致，并使用正式规范的命名法则和定义明确的方案或评估系统。在资源耗费大，劳动密集型的寿命和健康研究方面，这显得尤为重要 (Treuting et al.2016; Brayton, Treuting, and Ward 2012; Scudamore et al.2016)。

如前所述，环境因素是研究老龄化（和其他）表型变化显著相关的潜在因素，尤其是饮食，因为已有研究表明限制能量摄入可减少疾病和缓解老龄化的表型，同时，看护方式、饲养密度和健康状况也会对表型产生影响 (Treuting, Clifford, et al. 2012; Sellers 2012; Brayton, Treuting, and Ward 2012)。表 4 列出了特定环境条件是如何影响某些参数的；请参阅原始文献以获取相关的参考资料 (Brayton, Treuting, and Ward 2012)。

实验条件或变量	受影响参数
饮食添加剂: Fendbendazole, 维生素	肿瘤
饮食添加剂: 复方新诺明	甲状腺功能
饮食-脂肪/热量	乳腺肿瘤
饮食-脂肪/热量	动脉粥样硬化
饮食-脂肪/热量	白血病
饮食-脂肪/热量	免疫反应, 骨质流失
膳食脂肪+补充剂	阿尔茨海默病病理学
饮食限制	长寿、肿瘤、病变负担
饮食类型 - 纯化的AIN-76A与天然成分饮食 (NIH-07)	肿瘤、体重等
饮食类型-NIH-07, NTP-2000	肿瘤、体重、存活率
饮食类型 - 硬度, 高压灭菌	肿瘤、体重、存活率
富集	体重, 器官重量, 血液学
富集	淀粉样蛋白
外壳 - 笼式: 悬挂式, 鞋盒式	生存
饲养场所- 寝具	癌症, 药物代谢
饲养场所- 寝具或笼型	泌尿系综合征, 生存
饲养场所- 密度/分组	身体组分
饲养场所- 密度/分组	癌症和/或化疗反应
饲养场所 - 密度/分组和病原体状态	淀粉样变性
植入耳标	鳞状细胞癌
植入应答器	肿瘤, 增殖性病变
传染因子	长寿, 表型, 病理
光照周期	肿瘤生长
温度	免疫功能, 肿瘤生长, 毒性

[表 4]
在长期研究中影响表型和实验结果的实验变量的例子。请参阅原文注释 (Brayton, Treuting, and Ward 2012; PMID:22215684).

在任何的研究中，都必须对收集数据的方法和时间节点进行细致地规划。有些看似“次要的”决定，例如何时采血，是否提前禁食，以及采集管中应该放哪种类型的抗凝剂，汇总起来均可能对解释研究结果产生影响 (Treuting, Dintzis, et al.2012)。提高实验数据的可重复性依赖于对研究方法的详细描述 - 应包含环境因素等所有可能影响表型的因素。在组织病理学评估中得出错误结论而影响整个实验结果的案例已经出现过很多，甚至在最负盛名的期刊中也无法避免 (Ward, Schofield, and Sundberg 2017)。ARRIVE 指南概述了规划设计和实施实验过程中的基本规范，涉及组别设置，动物饲养等参数。对于病理学研究，研究者还需要参考 ARRIVE 指南的补充文件，Recommendations for Minimum Information for Publications of Experimental Pathology Data，即 MINPEPA，这些指南提供了可重复的病理学研究的设计方法与数据的采集方法，包括形态学，免疫组织化学和原位杂交研究 (Scudamore et al.2016)。

“科研界需要提高对这些因素的认识，记录这些参数并在发表时共享。ARRIVE 指南详细介绍了所需参数，但仍然存在需督促作者提供此信息以及要求期刊执行该政策的问题。归根结底，我们应当坚定地鼓励研究者们、期刊编辑和科研资助机构对实验细节的分享，并且让资助机构认识到，在许多情况下，确保实验数据的可重复性可以提升研究的价值和随之而来的转化医学价值 (Schofield, Ward, and Sundberg 2016)。”

参考文献

- Ackert-Bicknell, C. L., L. C. Anderson, S. Sheehan, W. G. Hill, B. Chang, G. A. Churchill, E. J. Chesler, R. Korstanje, and L. L. Peters. 2015. 'Aging Research Using Mouse Models', *Curr Protoc Mouse Biol*, 5: 95-133. PMID: 26069080
- Baker, D., K. Lidster, A. Sottomayor, and S. Amor. 2014. 'Two years later: journals are not yet enforcing the ARRIVE guidelines on reporting standards for pre-clinical animal studies', *PLoS Biol*, 12: e1001756. PMID: 24409096
- Baker, M. 2016. '1,500 scientists lift the lid on reproducibility', *Nature*, 533: 452-4. PMID: 27225100
- Barthold, S. W. 2002. "'Muromics': genomics from the perspective of the laboratory mouse', *Comp Med*, 52: 206-23. PMID: 12102565
- Barthold, Stephen W., Dean H. Percy, and Stephen M. Griffey. 2016. *Pathology of laboratory rodents and rabbits* (John Wiley & Sons, Inc.: Ames, Iowa).
- Begley, D. A., D. M. Krupke, S. B. Neuhauser, J. E. Richardson, C. J. Bult, J. T. Eppig, and J. P. Sundberg. 2012. 'The Mouse Tumor Biology Database (MTB): a central electronic resource for locating and integrating mouse tumor pathology data', *Vet Pathol*, 49: 218-23. PMID: 21282667
- Bogue, M. A., L. L. Peters, B. Paigen, R. Korstanje, R. Yuan, C. Ackert-Bicknell, S. C. Grubb, G. A. Churchill, and E. J. Chesler. 2016. 'Accessing Data Resources in the Mouse Phenome Database for Genetic Analysis of Murine Life Span and Health Span', *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 71: 170-7. PMID: 25533306

- Bolon, B., C. Brayton, G. H. Cantor, D. F. Kusewitt, J. K. Loy, E. A. Sartin, T. R. Schoeb, R. S. Sellers, J. C. Schuh, and J. M. Ward. 2008. 'Editorial: best pathology practices in research using genetically engineered mice', *Vet Pathol*, 45: 939-40. PMID: 18984800
- Bolon, B., S. Couto, L. Fiette, and K. L. Perle. 2012. 'Internet and print resources to facilitate pathology analysis when phenotyping genetically engineered rodents', *Vet Pathol*, 49: 224-35. PMID: 21825311
- Brayton, C. 2007. 'The mouse in biomedical research.' in James G. Fox (ed.), *American College of Laboratory Animal Medicine series* (Elsevier, AP: Amsterdam ; Boston).
- Brayton, C. F., P. M. Treuting, and J. M. Ward. 2012. 'Pathobiology of aging mice and GEM: background strains and experimental design', *Vet Pathol*, 49: 85-105. PMID: 22215684
- Bronson, R. T., and R. D. Lipman. 1993. 'FRAR course on laboratory approaches to aging. The role of pathology in rodent experimental gerontology', *Aging (Milano)*, 5: 253-7. PMID: 8297928
- Cardiff, R. D., M. R. Anver, B. A. Gusterson, L. Hennighausen, R. A. Jensen, M. J. Merino, S. Rehm, J. Russo, F. A. Tavassoli, L. M. Wakefield, J. M. Ward, and J. E. Green. 2000. 'The mammary pathology of genetically engineered mice: the consensus report and recommendations from the Annapolis meeting', *Oncogene*, 19: 968-88. PMID: 10713680
- Eppig, J. T., C. L. Smith, J. A. Blake, M. Ringwald, J. A. Kadin, J. E. Richardson, and C. J. Bult. 2017. 'Mouse Genome Informatics (MGI): Resources for Mining Mouse Genetic, Genomic, and Biological Data in Support of Primary and Translational Research', *Methods Mol Biol*, 1488: 47-73. PMID: 27933520
- Flurkey, K., J. M. Curren, and D. E. Harrison. 2007. 'The mouse in biomedical research.' in James G. Fox (ed.), *American College of Laboratory Animal Medicine series* (Elsevier, AP: Amsterdam ; Boston).
- Freedman, L. P., I. M. Cockburn, and T. S. Simcoe. 2015. 'The Economics of Reproducibility in Preclinical Research', *PLoS Biol*, 13: e1002165. PMID: 26057340
- Kilkenny, C., W. Browne, I. C. Cuthill, M. Emerson, D. G. Altman, and N. C3Rs Reporting Guidelines Working Group. 2010. 'Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines', *Br J Pharmacol*, 160: 1577-9. PMID: 20649561
- Ladiges, W., Y. Ikeno, D. Liggitt, and P. M. Treuting. 2013. 'Pathology is a critical aspect of preclinical aging studies', *Pathobiol Aging Age Relat Dis*, 3. PMID: 23970952
- Maddatu, T. P., S. C. Grubb, C. J. Bult, and M. A. Bogue. 2012. 'Mouse Phenome Database (MPD)', *Nucleic Acids Res*, 40: D887-94. PMID: 22102583
- O'Connell, K. E., A. M. Mikkola, A. M. Stepanek, A. Vernet, C. D. Hall, C. C. Sun, E. Yildirim, J. F. Staropoli, J. T. Lee, and D. E. Brown. 2015. 'Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research', *Comp Med*, 65: 96-113. PMID: 25926395
- Pettan-Brewer, C., and P. M. Treuting. 2011. 'Practical pathology of aging mice', *Pathobiol Aging Age Relat Dis*, 1. PMID: 22953032
- 'Reality check on reproducibility'. 2016. *Nature*, 533: 437. PMID: 27225078
- Schofield, P. N., S. D. Brown, J. P. Sundberg, M. Arends, M. V. Warren, P. Dubus, M. Ellender, L. Fiette, B. Rozell, L. Quintanilla-Martinez, M. Raspa, J. Y. Song, M. van der Valk, and C. McKerlie. 2009. 'PRIME importance of pathology expertise', *Nat Biotechnol*, 27: 24-5. PMID: 19131991

- Schofield, P. N., M. Gruenberger, and J. P. Sundberg. 2010. 'Pathbase and the MPATH ontology. Community resources for mouse histopathology', *Vet Pathol*, 47: 1016-20. PMID: 20587689
- Schofield, P. N., P. Vogel, G. V. Gkoutos, and J. P. Sundberg. 2012. 'Exploring the elephant: histopathology in high-throughput phenotyping of mutant mice', *Dis Model Mech*, 5: 19-25. PMID: 22028326
- Schofield, P. N., J. M. Ward, and J. P. Sundberg. 2016. 'Show and tell: disclosure and data sharing in experimental pathology', *Dis Model Mech*, 9: 601-5. PMID: 27483498
- Scudamore, C. L., E. J. Soilleux, N. A. Karp, K. Smith, R. Poulson, C. S. Herrington, M. J. Day, C. F. Brayton, B. Bolon, B. Whitelaw, E. S. White, J. I. Everitt, and M. J. Arends. 2016. 'Recommendations for minimum information for publication of experimental pathology data: MINPEPA guidelines', *J Pathol*, 238: 359-67. PMID: 26387837
- Sellers, R. S. 2012. 'The gene or not the gene--that is the question: understanding the genetically engineered mouse phenotype', *Vet Pathol*, 49: 5-15. PMID: 21971987
- Sellers, R. S. 2017. 'Translating Mouse Models', *Toxicol Pathol*, 45: 134-45. PMID: 27815489
- Sellers, R. S., C. B. Clifford, P. M. Treuting, and C. Brayton. 2012. 'Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice', *Vet Pathol*, 49: 32-43. PMID: 22135019
- Sellers, R. S., and J. M. Ward. 2012. 'Toward a better understanding of mouse models of disease', *Vet Pathol*, 49: 4. PMID: 22215683
- Shappell, S. B., G. V. Thomas, R. L. Roberts, R. Herbert, M. M. Ittmann, M. A. Rubin, P. A. Humphrey, J. P. Sundberg, N. Rozengurt, R. Barrios, J. M. Ward, and R. D. Cardiff. 2004. 'Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee', *Cancer Res*, 64: 2270-305. PMID: 15026373
- Silva, K. A., V. E. Kennedy, and J. P. Sundberg. 2014. 'Systematic evaluation of skin and adnexa in mutant laboratory mice', *Curr Protoc Mouse Biol*, 4: 105-19. PMID: 25554736
- Snyder, J. M., J. M. Ward, and P. M. Treuting. 2016. 'Cause-of-Death Analysis in Rodent Aging Studies', *Vet Pathol*, 53: 233-43. PMID: 26508696
- Sukoff Rizzo, S. J., and J. L. Silverman. 2016. 'Methodological Considerations for Optimizing and Validating Behavioral Assays', *Curr Protoc Mouse Biol*, 6: 364-79. PMID: 27906464
- Sundberg, J. P., A. Berndt, B. A. Sundberg, K. A. Silva, V. Kennedy, R. S. Smith, T. K. Cooper, and P. N. Schofield. 2016. 'Approaches to Investigating Complex Genetic Traits in a Large-Scale Inbred Mouse Aging Study', *Vet Pathol*, 53: 456-67. PMID: 26936752
- Sundberg, J. P., and P. N. Schofield. 2010. 'Commentary: mouse genetic nomenclature. Standardization of strain, gene, and protein symbols', *Vet Pathol*, 47: 1100-4. PMID: 20685919
- Sundberg, J. P., J. M. Ward, and P. Schofield. 2009. 'Where's the mouse info?', *Vet Pathol*, 46: 1241-4. PMID: 19605899
- Treuting, P. M., C. B. Clifford, R. S. Sellers, and C. F. Brayton. 2012. 'Of mice and microflora: considerations for genetically engineered mice', *Vet Pathol*, 49: 44-63. PMID: 22173977
- Treuting, P. M., and J. M. Snyder. 2015. 'Mouse Necropsy', *Curr Protoc Mouse Biol*, 5: 223-33. PMID: 26331757

- Treuting, P. M., J. M. Snyder, Y. Ikeno, P. N. Schofield, J. M. Ward, and J. P. Sundberg. 2016. 'The Vital Role of Pathology in Improving Reproducibility and Translational Relevance of Aging Studies in Rodents', *Vet Pathol*, 53: 244-9. PMID: 26792843
- Treuting, Piper M., Suzanne M. Dintzis, Charles W. Frevert, H. Denny Liggitt, and Kathleen S. Montine. 2012. *Comparative anatomy and histology : a mouse and human atlas* (Elsevier/Academic Press: Amsterdam ; Boston).
- Ullman-Cullere, M. H., and C. J. Foltz. 1999. 'Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice', *Lab Anim Sci*, 49: 319-23. PMID: 10403450
- Ward, J. M. 2002. 'Comment on the muromics "garden path"', *Comp Med*, 52: 302. PMID: 12211269
- Ward, J. M., P. N. Schofield, and J. P. Sundberg. 2017. 'Reproducibility of histopathological findings in experimental pathology of the mouse: a sorry tail', *Lab Anim (NY)*, 46: 146-51. PMID: 28328876
- Ward, J. M., S. A. Youssef, and P. M. Treuting. 2016. 'Why Animals Die: An Introduction to the Pathology of Aging', *Vet Pathol*, 53: 229-32. PMID: 26936750
- Ward, Jerrold Michael. 2000. *Pathology of genetically engineered mice* (Iowa State University Press: Ames).
- Yuan R, Ackert-Bicknell C, Paigen B, Peters LL. 2007. Aging study: Lifespan and survival curves for 31 inbred strains of mice. MPD:Yuan2. Mouse Phenome Database web site, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine USA. <http://phenome.jax.org> [Cited 03 May, 2017]

杰克森实验室 The Jackson Laboratory

上海市浦东新区金科路 2889 弄 3 号长泰广场 C 座 629 室

技术支持

电话：400-001-2626

邮件：micetech@jax.org.cn

网站：www.jax.org/cn

询价下单

电话：400-693-5700

邮件：orderquest@jax.org.cn

网站：jax.ibiocart.com



扫码关注官方微信

