

中国实验动物学会
团体标准

《实验动物 痛经动物模型制备和评价
技术规范》

编制说明

联系人：苗明三

联系电话：13203856889

编制单位：河南中医药大学

时 间：2026 年 7 月 16 日

中国实验动物学会团体标准

《实验动物 痛经动物模型制备和评价技术规范》编制说明

（一） 工作简况，包括任务来源、协作单位

起草人针对国内外痛经动物模型的建立方法诸多，但缺乏规范的造模方法及模型评价标准问题。首先基于中西医临床病症特点对痛经动物模型与临床吻合度进行评价分析，其次对吻合度高的造模方式进行验证，任务来源主要是期前实验中发现痛经模型建立的存在的问题，任务尚无协作单位。

（二） 主要工作过程、标准主要起草人及其所做的工作等；

团队长期从事痛经的中医药干预作用研究，前期发现痛经动物模型的建立标准不一,方法不同，但缺少能反映痛经临床病症特点、体现痛经中西医病因的动物模型特点的复制方法。起草人对国内外关于大小鼠的痛经模型的制备方法进行归纳，对常用痛经模型的实验方法、评价指标、注意事项进行了系统性总结，同时对目前常用的痛经模型与临床特征的吻合情况、优缺点进行了分析，对高吻合度动物模型进行了实验验证，以期选择适宜的痛经模型与行为学检测方法，为复制出更贴近临床发病特点的痛经模型提出完善思路。

（三） 标准编写背景；

痛经是女性经期常见的妇科症状，以经期或经前后下腹部痉挛性疼痛为主要表现，常伴随腰酸、坠胀、恶心、呕吐、乏力等不适，严重时可影响正常生活与工作。痛经动物模型的行为学变化、病理学变化可以直观的反映出痛经动物模型的成模与否以及药物干预之后的变化情况，这对于痛经发病机制的研究以及治疗药物的开发具有重要的意义。目前，痛经的动物模型在国内外研究中应用广泛，然而关于痛经模型构建方法、评估指标和验证流程等目前仍未有统一性的标准，基于此，我们在基于中西医临床病症特点的动物模型评价基础上，筛选吻合度高的动物模型进行了造模的参数和方法规定，建立痛经模型标准。本标准通过对痛经动物模型的行为学以及病理学改变等进行观察，现制定痛经动物模型制备和评价技术规范。

（四） 标准编制原则；

1. 科学性与临床相关性原则

动物模型的制备与评价需要以疾病的临床表现与病理特征为基础，保证模型的科学性与临床相关性。

痛经是女性经期或经前后常见的疼痛综合征，核心表现为下腹部痉挛性或坠胀性疼痛，可放射至腰骶部、会阴部，常伴随腰酸、恶心、呕吐、乏力、头晕等不适，严重时干扰日常活动。其病理基础主要涉及子宫平滑肌异常收缩、局部缺血缺氧及炎症反应激活：子宫平滑肌因多种因素触发强直性收缩，导致肌层血流灌注减少，乳酸等代谢产物堆积，刺激痛觉感受器；同时，局部炎症微环境激活，促使炎症介质释放，进一步放大疼痛信号。体内指标呈现特征性变化：子宫内膜及经血中前列腺素（尤其 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ）水平升高，驱动子宫平滑肌过度收缩；炎症因子（如 $\text{TNF-}\alpha$ ）浓度上升，参与炎症反应及疼痛敏化；性激素（雌二醇、孕酮）波动影响子宫敏感性，雌二醇过高或孕酮撤退异常可加剧收缩。本标准在我们在基于中西医临床病症特点的动物模型评价基础上，筛选吻合度高的动物模型进行了造模的参数和方法规定，建立痛经动物模型。

主要对痛经动物模型的行为学变化、全血用全自动血液分析仪测定高、中、低切变率下的全血黏度；全子宫测子宫脏器指数；ELISA 检测大鼠血清 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 、 β -EP、 PGE_2 、 TXB_2 水平，子宫匀浆液检测 PROG、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 水平；镜下观察子宫组织形态变化，并制定了标准，与痛经的临床表现高度一致，保证了模型的科学性与临床相关性。

2. 可重复性与质量控制原则

可重复性与质量控制是动物模型能否复制与否的关键因素，本标准对痛经动物模型所使用的动物品系来源进行规定，同时对动物饲养环境、实验操作进行规范。同时，对动物模型的指标变化规定了统计学要求，对痛经动物模型的质量控制进一步做出了保障。

3. 动物福利与伦理优先原则

本标准严格遵循实验动物 3R 原则，即替代（Replacement）、减少

(Reduction)、优化(Refinement)。针对操作简单、成模率高的模型制备方法,如苯甲酸雌二醇联合缩宫素+冰水浴模型中,减少实验动物的使用数量。在操作复杂且有一定概率不成模的模型制备中,如手术摘除卵巢联合注射苯甲酸雌二醇+皮下插入黄体酮植入物+子宫角宫腔注射芝麻油模型时,通过提高实验人员操作技术、优化实验设备、做好麻醉工作等方式提高成模率,减轻实验动物痛苦,避免动物应激的发生。

同时,本标准严格要求所有动物实验必须在所处机构动物伦理委员会的监督之下,同时取得动物实验伦理批号方可进行。

(五) 确定标准主要内容(如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等)的论据(包括试验、统计数据),修订标准时,应增列新旧标准水平的对比;

1.模型涵盖范围

本标准依据国内外研究进展对痛经动物模型的主流制备方法进行了规范,基于中西医临床病症特点的动物模型评价,筛选吻合度高的动物模型,包括冰水物理刺激联合皮下注射苯甲酸雌二醇和缩宫素诱导的大鼠痛经模型、手术摘除卵巢联合注射苯甲酸雌二醇+皮下插入黄体酮植入物+子宫角宫腔注射芝麻油诱导的小鼠痛经模型、与结扎雄鼠交配诱导假孕联合宫内注射芝麻油+皮下注射米非司酮诱导的小鼠痛经模型。

1.1 冰水物理刺激联合皮下注射苯甲酸雌二醇和缩宫素

给予大鼠连续 10 天股部皮下注射苯甲酸雌二醇,推荐注射剂量为 1-2 d 注射 0.8 mg/kg, 3-10 d, 每天注射 0.4 mg/kg; 每天上午置于冰水中 20 min。

1.2 手术摘除卵巢联合注射苯甲酸雌二醇+皮下插入黄体酮植入物+子宫角宫腔注射芝麻油诱导痛经动物模型

手术摘除卵巢,卵巢恢复后股部皮下注射苯甲酸雌二醇,推荐注射剂量为 1-2d 注射 0.8 mg/kg, 3-7 d, 每天注射 0.4 mg/kg。苯甲酸雌二醇注射结束后次日,将黄体酮缓释植入物埋入皮下,推荐剂量为 10mg 埋入皮下;黄体酮植入后第 3 天,对小鼠子宫角注射无菌芝麻油 0.1mL。

1.3 结扎雄鼠交配诱导假孕联合宫内注射芝麻油+皮下注射米非司酮

假妊娠的第 4 天通过宫内注射 100 μL 芝麻油,假妊娠六天后,皮下注射含 5% 乙醇和 95%花生油的 10mg /kg 米非司酮。

2. 模型评价方法与标准

本标准依据痛经的扭体反应进行检测,临床表现身体非对称性倾斜,倾向一侧,后肢延伸且后足爪背向弯曲,整体躯体延展并伴随骨盆部位持续性的侧向扭转活动,腹部肌群收缩明显。这些症状不仅包含有扭体反应的体征,还额外表现出体温下降引发的寒战、蜷缩、以减少热量散失、呼吸功能减弱等表现,对痛经动物模型相应的行为学指标进行检测。成模标准:与对照组相比,模型组行为学指标具有明显差异 ($P<0.05$)。

此外,本标准依据痛经模型的血液、子宫组织进行检测。成模标准:与对照组相比,模型组血清 TXB₂、PGE₂ 水平明显升高 ($P<0.05$), 6-keto-PGF₁ α 、 β -EP 水平明显降低 ($P<0.05$), 血液高切变率 (200 s^{-1})、中切变率 (50 s^{-1})、低切变率 (1 s^{-1}) 下的全血黏度均明显升高 ($P<0.05$), 模型组子宫匀浆中 PGF₂ α 水平显著升高 ($P<0.05$), PROG 水平明显降低 ($P<0.05$), 大鼠子宫组织出现明显病理变化。

(五) 主要试验(或验证)的分析、综述报告,技术经济论证,预期的经济效益;

1. 冰水物理刺激联合皮下注射苯甲酸雌二醇和缩宫素制备大鼠寒凝血瘀痛经动物模型

1.1 表观指标

与对照组相比,模型组大鼠扭体潜伏期时间显著缩短,扭体次数显著增加 ($P<0.01$); 动物毛发光泽度降低,活跃度降低,饮水饮食量减少,对外界环境刺激的反应降低等。与模型组相比,阳性药布洛芬缓释胶囊组明显延长大鼠扭体潜伏期时间,显著降低扭体次数 ($P<0.01$)。阳性药组毛发状态恢复,饮食饮水量增加,精神状态恢复。见图 1。

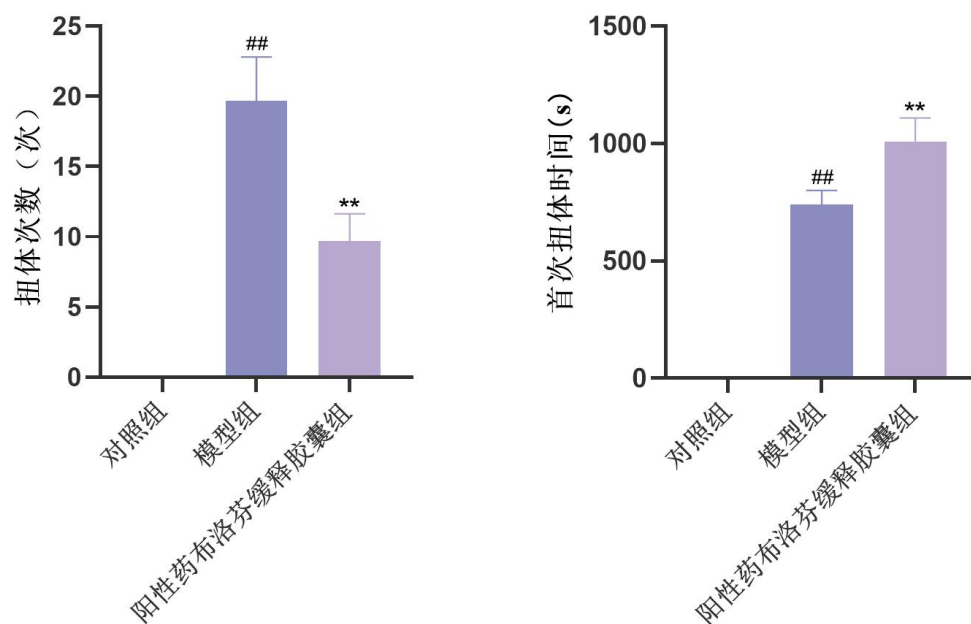


图 1 宛艾水煎液对大鼠寒凝血瘀痛经模型表观指标的影响 (n=6)

注: 与对照组比较, ^{##} $P<0.01$, [#] $P<0.05$; 与模型组比较, ^{**} $P<0.01$, ^{*} $P<0.05$ 。

1.2 血清 PGE₂、TXB₂、6-keto-PGF₁ α 、 β -EP 水平

与对照组比较, 模型组血清 TXB₂、PGE₂ 水平显著升高 ($P<0.01$), 6-keto-PGF₁ α 、 β -EP 水平显著降低 ($P<0.01$), 从血清生化指标结果说明大鼠寒凝血瘀痛经模型建立成功。与模型组比较, 阳性药布洛芬缓释胶囊组血清 6-keto-PGF₁ α 、 β -EP 水平均显著升高 ($P<0.01$), TXB₂、PGE₂ 水平显著降低 ($P<0.01$), 详细结果见图 2。

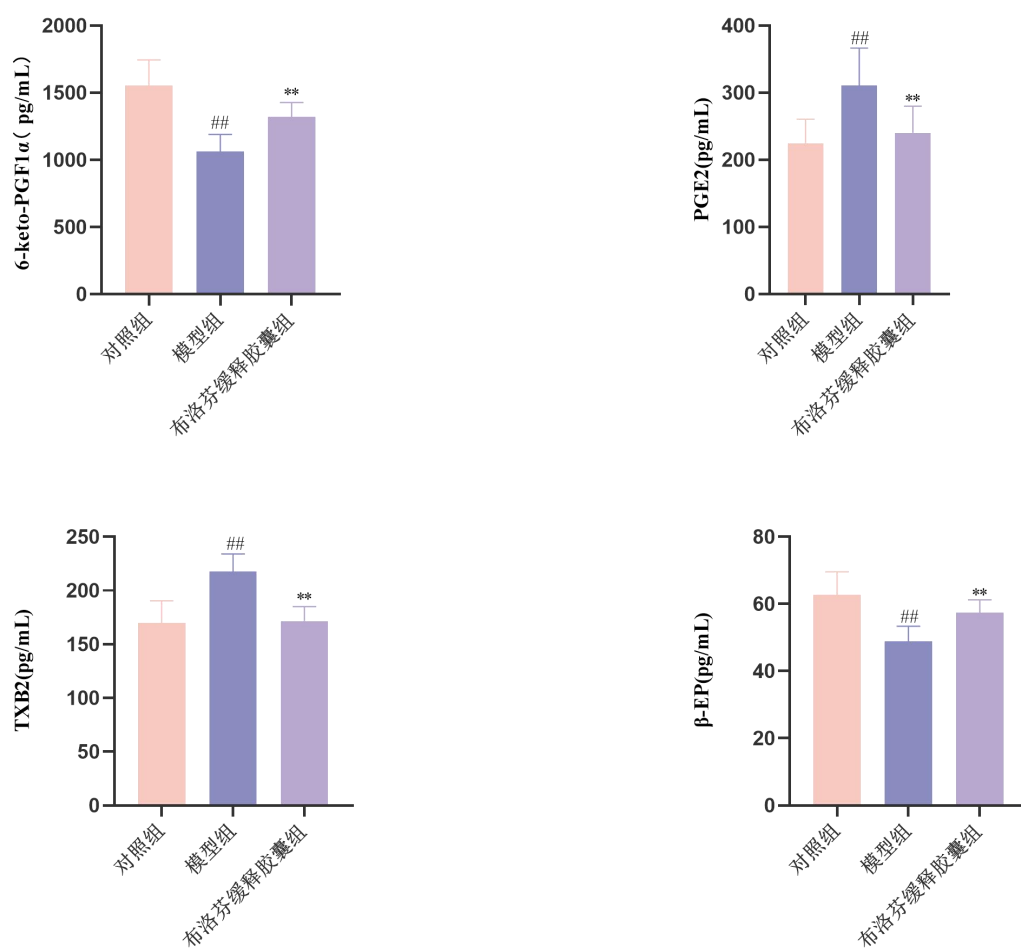


图 2 宛艾水煎液对大鼠寒凝血瘀痛经模型血清 PGE2、TXB2、6-keto-PGF1 α 、 β -EP 水平的影响

1.3 血流变指标

与对照组比较, 模型组高切变率 (200 s^{-1})、中切变率 (50 s^{-1})、低切变率 (1 s^{-1}) 下的全血黏度均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性药布洛芬缓释胶囊组显著降低高、中、低切变率下的全血黏度 ($P < 0.01$)。见图 3。

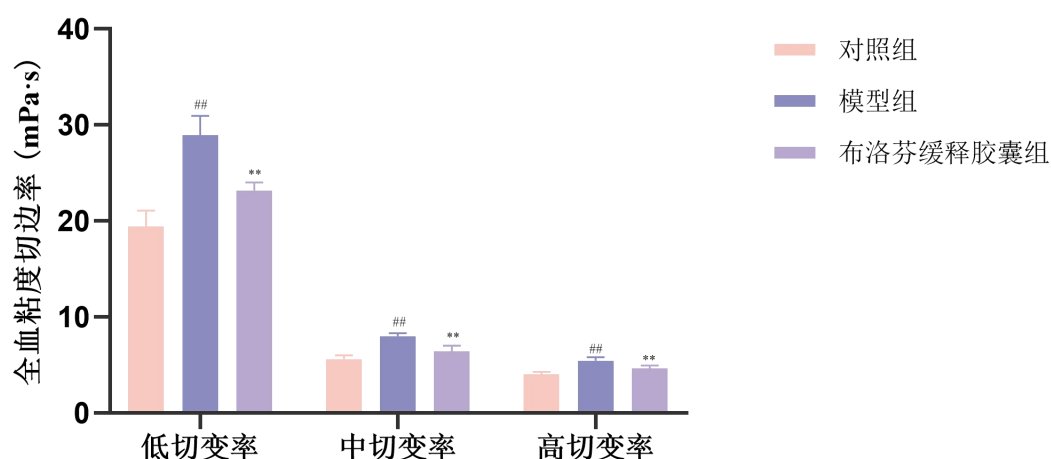


图 3 对大鼠寒凝血瘀痛经模型全血黏度的影响

注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ ，^{*} $P<0.05$ 。

1.4 子宫匀浆 PGF2 α 、PROG 水平

与对照组比较，模型组大鼠子宫匀浆中 PGF2 α 水平显著升高 ($P<0.01$)，PROG 水平显著降低 ($P<0.01$)。与模型组比较，阳性药布洛芬缓释胶囊组 PGF2 α 水平显著降低 ($P<0.01$)，PROG 水平显著升高 ($P<0.01$)。见图 4。

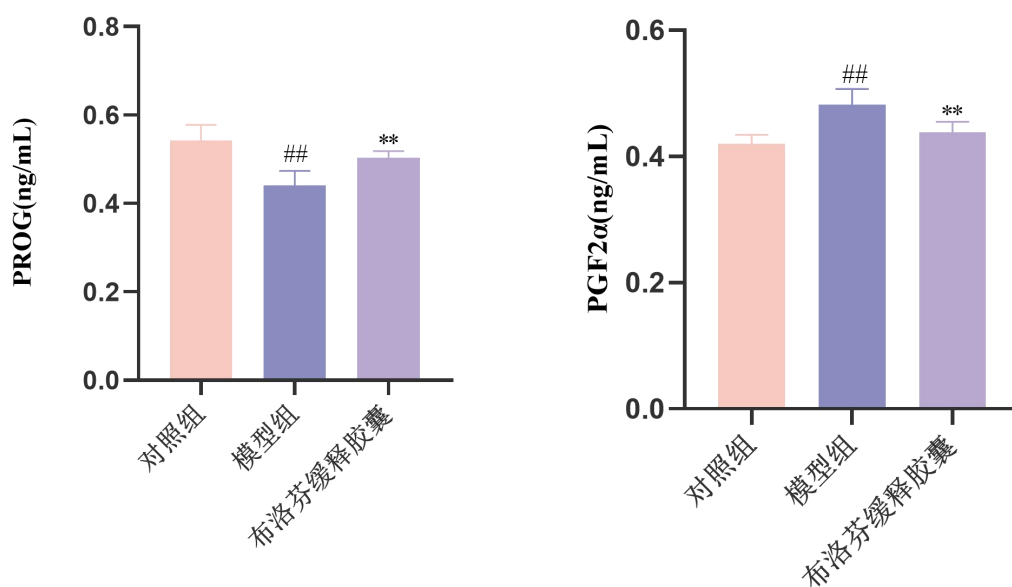


图 4 宛艾水煎液对大鼠寒凝血瘀痛经模型子宫匀浆 PGF2 α 、PROG 水平的影响

注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ ，^{*} $P<0.05$ 。

1.5 子宫组织形态学指标

对照组大鼠子宫内壁呈现平滑状态，固有层组织结构排列紧密，且未观测到

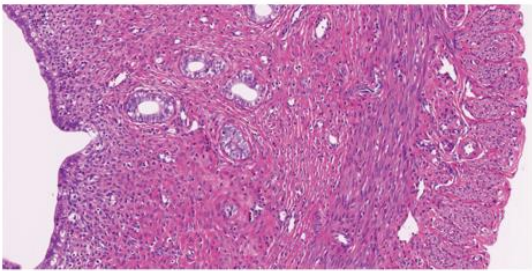
任何明显异常。模型组大鼠的子宫内膜出现水肿，上皮细胞有空泡样变性，子宫内的小血管呈现出扩张并伴有充血的现象，且存在炎性细胞明显浸润。阳性药布洛芬缓释胶囊组上述病理情况得到明显改善，子宫损伤减少，结构趋于清晰，内膜完整，炎性浸润减少。

从表 1 和图 5 可看出，经 Ridit 检验分析，与空白组比较，模型组大鼠子宫组织出现显著病理变化 ($P<0.01$)。与模型组比较，阳性药布洛芬缓释胶囊组可显著减轻大鼠子宫组织病理变化 ($P<0.01$)。

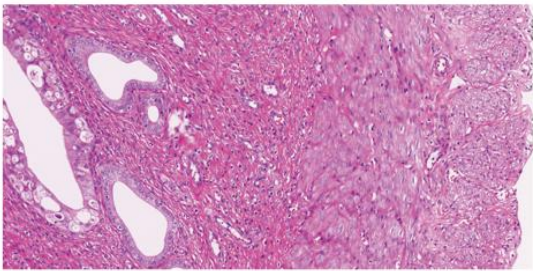
表 1 病理指标结果 (n=12)

分组	动物数 (只)	-	+	++	+++	P
对照组	12	12	0	0	0	
模型组	12	0	2	3	7	##
布洛芬缓释胶囊组	12	4	5	3	0	**

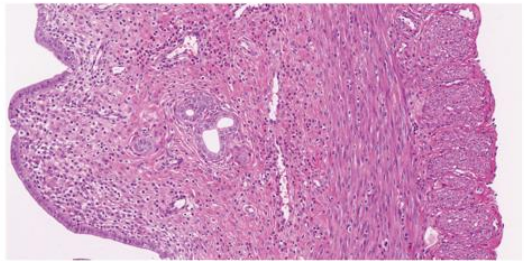
注：与对照组比较，## $P<0.01$ ，# $P<0.05$ ；与模型组比较，** $P<0.01$ ，* $P<0.05$ 。



空白组



模型组



布洛芬缓释胶囊组

图 5 病理指标结果 (HE 100×)

2. 皮下注射苯甲酸雌二醇和缩宫素制备小鼠痛经模型

2.1 表观指标

与对照组相比,模型组小鼠扭体潜伏期时间显著缩短,扭体次数显著增加 ($P<0.01$); 动物毛发光泽度降低,活跃度降低,饮水饮食量减少,对外界环境刺激的反应降低等。与模型组相比,阳性药布洛芬缓释胶囊组明显延长小鼠扭体潜伏期时间,显著降低扭体次数 ($P<0.01$)。阳性药组毛发状态恢复,饮食饮水量增加,精神状态恢复。见图 6。

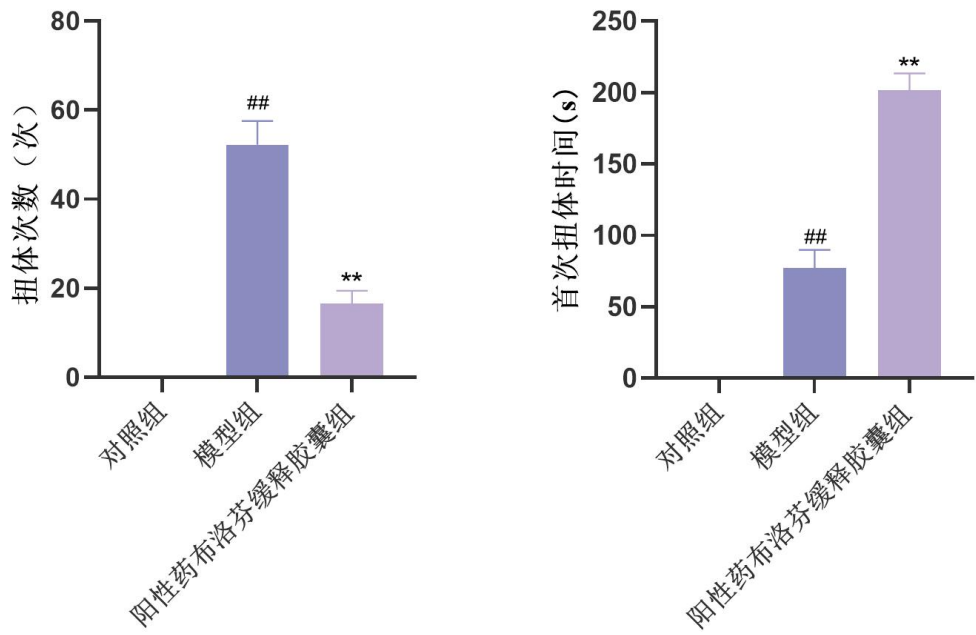


图 6 宛艾水煎液对小鼠痛经模型表观指标的影响 (n=6)

注: 与对照组比较, $^{##}P<0.01$, $^{\#}P<0.05$; 与模型组比较, $^{**}P<0.01$, $^{*}P<0.05$ 。

1.2 血清 E2、PROG、ADH 水平

与对照组比较,模型组血清 ADH、E2 水平显著升高 ($P<0.01$), PROG 水平显著降低 ($P<0.01$),从血清生化指标结果说明小鼠痛经模型建立成功。与模型组比较,阳性药布洛芬缓释胶囊组血清 PROG 水平均显著升高 ($P<0.01$), ADH、E2 水平显著降低 ($P<0.01$),详细结果见图 7。

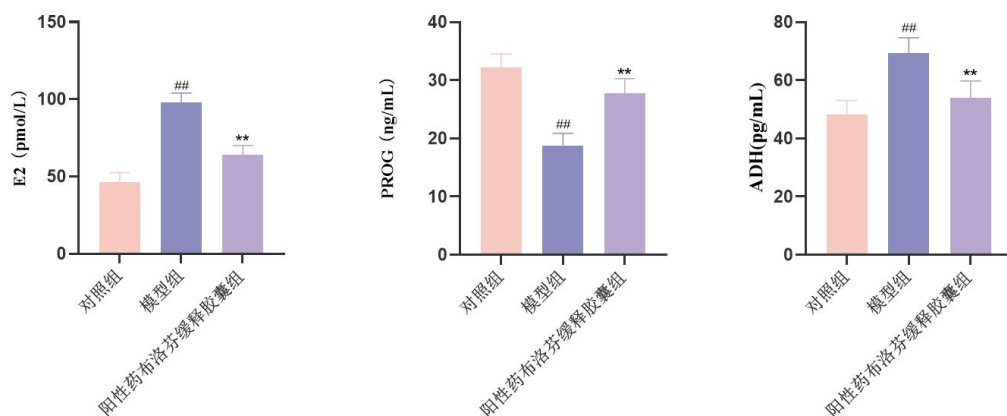


图 7 宛艾水煎液对小鼠痛经模型血清 E2、PROG、ADH 水平的影响

1.3 子宫匀浆 PGF2 α 、PGE2 水平

与对照组比较,模型组小鼠子宫匀浆中 PGF2 α 水平显著升高($P<0.01$),PGE2 水平显著降低 ($P<0.01$)。与模型组比较,阳性药布洛芬缓释胶囊组 PGF2 α 水平显著降低 ($P<0.01$),PGE2 水平显著升高 ($P<0.01$)。见图 8。

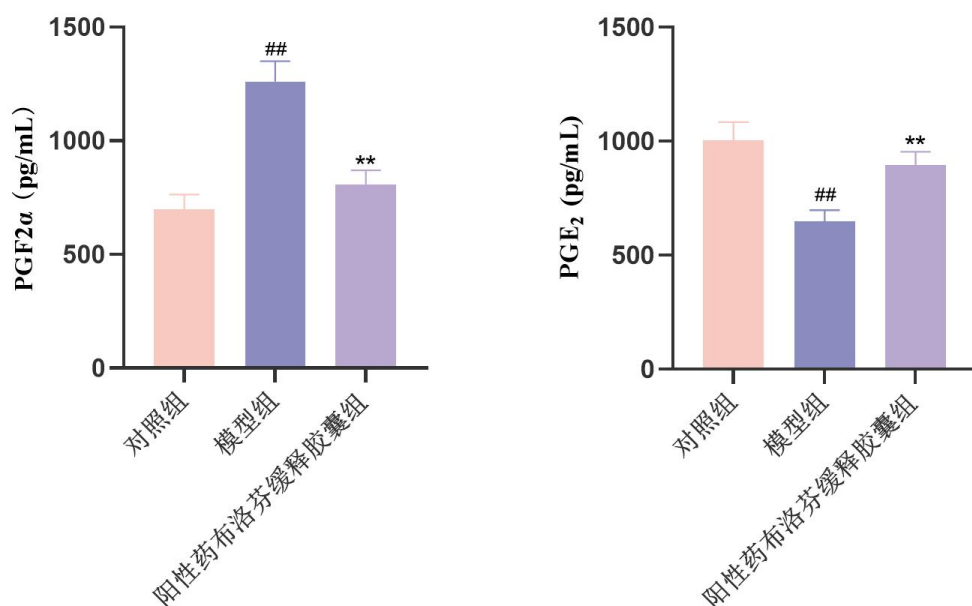


图 8 宛艾水煎液对小鼠痛经模型子宫匀浆 PGF2 α 、PGE2 水平的影响
注: 与对照组比较, ^{##} $P<0.01$, [#] $P<0.05$; 与模型组比较, ^{**} $P<0.01$, ^{*} $P<0.05$ 。

1.5 子宫组织形态学指标

对照组小鼠子宫内壁呈现平滑状态,固有层组织结构排列紧密,且未观测到任何明显异常。模型组小鼠的子宫内膜出现水肿,上皮细胞有空泡样变性,子宫

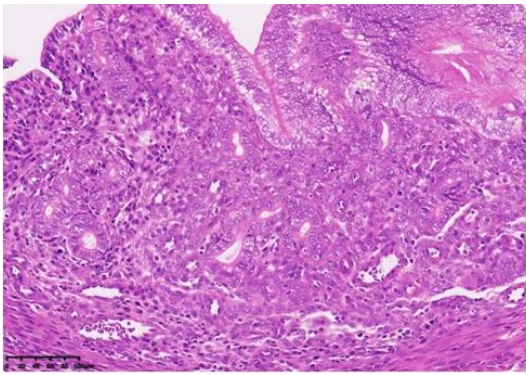
内的小血管呈现出扩张并伴有充血的现象，且存在炎性细胞明显浸润。阳性药布洛芬缓释胶囊组上述病理情况得到明显改善，子宫损伤减少，结构趋于清晰，内膜完整，炎性浸润减少。

从表 2 和图 9 可看出，经 Ridit 检验分析，与空白组比较，模型组小鼠子宫组织出现显著病理变化 ($P<0.01$)。与模型组比较，阳性药布洛芬缓释胶囊组可显著减轻小鼠子宫组织病理变化 ($P<0.01$)。

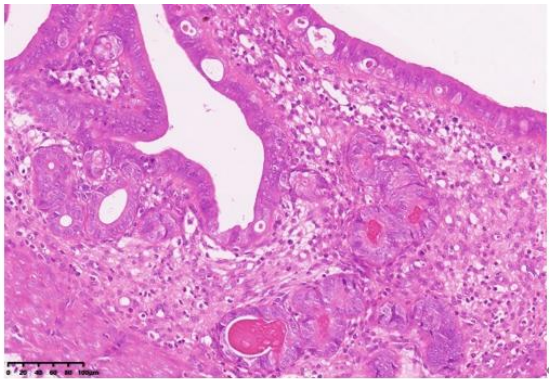
表 2 病理指标结果 (n=12)

分组	动物数 (只)	-	+	++	+++	P
对照组	12	12	0	0	0	
模型组	12	0	0	4	8	##
布洛芬缓释胶囊组	12	4	6	2	0	**

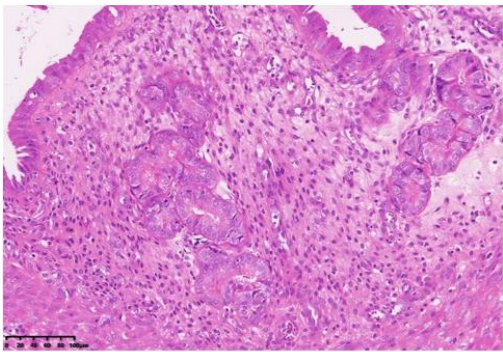
注：与对照组比较，## $P<0.01$ ，# $P<0.05$ ；与模型组比较，** $P<0.01$ ，* $P<0.05$ 。



空白组 (HE×200) ↵



模型组 (HE×200) ↵



布洛芬缓释胶囊组 (HE×200) ↵

图 9 病理指标结果 (HE 100×)

3. 综述报告：基于中西医临床病证特点的原发性痛经动物模型分析。（已

发表在中国实验方剂学杂志)

(六) 采用国际标准和国外先进标准的程度, 以及与国际、国外同类标准水平的对比情况, 或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况;

目前国内外尚未发布关于痛经动物模型的标准。本标准依据国内外文献及标准起草人团队大量实验基础制定。

(八) 与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系;

与现行法律、法规没有冲突。

(九) 重大分歧意见的处理经过和依据;

无

(十) 标准作为强制性标准或推荐性标准的建议;

推荐性标准

(十一) 贯彻标准的要求和措施建议(包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容);

将本标准以期刊论文形式发布, 宣传贯彻本标准。中国实验动物学会可以本标准为依据, 开展实验动物鉴定和评价相关的标准化工作。

(十二) 废止现行有关标准的建议;

无

(十二) 其他应予说明的事项。

无