

文章编号: 1000-2812 (2024) 02-0055-05

## 动物实验的研究计划指南——PREPARE 解读

牛牧町<sup>1#</sup>, 赵跃<sup>1#</sup>, 易少威<sup>2#</sup>, 王浙<sup>2</sup>, 阮建华<sup>2</sup>, 谢蓓<sup>2</sup>, 李朝霞<sup>3,4</sup>, 胡凯燕<sup>2</sup>,  
奥琪<sup>2</sup>, 任紫钰<sup>1,2</sup>, 丁奉兴<sup>2</sup>, 刘晨<sup>2</sup>, 刘晏利<sup>2</sup>, 孟保伟<sup>5\*</sup>, 马彬<sup>1,2\*</sup>

1 甘肃中医药大学 公共卫生学院, 兰州 730000; 2 兰州大学 基础医学院, 兰州 730000;  
3 甘肃省第二人民医院 科研与研究生科, 兰州 730000; 4 西北民族大学 临床医学院, 兰州 730000;  
5 甘肃省妇幼保健院/甘肃省中心医院 胸外科, 兰州 730050;

**摘要:** 临床前动物实验是连接基础医学和临床医学的关键环节, 动物实验设计的规范性对于动物实验的质量、可重复性、结果的可信度至关重要。本文对目前国际上已有动物实验的研究计划指南(PREPARE)进行介绍, PREPARE涵盖3个领域(研究计划制定、实验研究人员与动物实验室团体协作的构建、实验过程的质量控制), 其中包含15个条目和42个亚条目, 旨在普及相关知识, 提高研究者对动物实验设计阶段的重视, 同时为国内研究者规划动物实验提供参考。

**关键词:** 动物实验; 动物实验的研究计划指南; 动物实验计划; 动物浪费; 3R原则

中图分类号: R-332 文献标识码: A doi: 10.13885/j.issn.1000-2812.2024.02.009

## Guidelines for planning animal experiments for research: a PREPARE Interpretation

Niu Muting<sup>1#</sup>, Zhao Yue<sup>1#</sup>, Yi Shaowei<sup>2#</sup>, Wang Zhe<sup>2</sup>, Ruan Jianhua<sup>2</sup>, Xie Bei<sup>2</sup>,  
Li Zhaoxia<sup>3,4</sup>, Hu Kaiyan<sup>2</sup>, Ao Qi<sup>2</sup>, Ren Ziyu<sup>1,2</sup>, Ding Fengxing<sup>2</sup>, Liu Chen<sup>2</sup>,  
Liu Yanli<sup>2</sup>, Meng Baowei<sup>5\*</sup>, Ma Bin<sup>1,2\*</sup>

1 School of Public Health, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2 School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3 Department of Scientific Research and Graduate Studies, Gansu Second People's Hospital, Lanzhou 730000, China; 4 School of Clinical Medicine, Northwest Minzu University, Lanzhou 730000, China; 5 Department of Thoracic Surgery, Gansu Maternal and Child Health Hospital/Gansu Provincial Central Hospital, Lanzhou 730050, China

**Abstract:** Preclinical animal experiments are a key link between basic medicine and clinic, and the standardization of animal experiment design is crucial for the quality, reproducibility and credibility of the results of animal experiments. In this paper, we introduced the international research planning guidelines for animal experiments (PREPARE), covering three major areas (formulation of a study, dialogue between scientists and the animal facility, quality control of the components in the study) and containing 15 entries and 42 subentries, with the aim to popularize the relevant knowledge and improve researchers' attention to the design phase of animal experiments, as well as to provide a reference for Chinese researchers in planning animal experiments.

**Keywords:** animal experimentation; planning research and experimental procedures on animals guidelines; animal experimentation plan; animal waste; 3R principle

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 兰州市科技计划资助项目(2022-3-8)

作者简介: 马彬, 教授, 博士研究生导师, 博士, 研究方向为基于临床前实验和证据合成的药品及医疗器械(材料)评价与成果转化研究, e-mail: mab@lzu.edu.cn, 通信作者

孟保伟, 副主任医师, 研究方向为胸外科临床, e-mail: 1046982443@qq.com, 通信作者

#共同第一作者

\*共同通信作者

动物实验是医学研究从实验走向临床的关键环节,动物实验设计的科学性和规范性直接影响其结果的可信度,同时也是保证其结果向临床转化和应用的重要前提<sup>[1]</sup>。

由于当前动物实验设计的规范性面临着伦理要求和科学需要的诸多挑战,致其质量和可重复性受到广泛的关注<sup>[2-3]</sup>。Ramirez等<sup>[4]</sup>对近10年发表在*Circulation*, *Circulation Research*, *Hypertension*, *Stroke*等期刊上的共3396个动物实验进行全面评价后发现:仅21.8%的研究对实验动物进行随机分组,32.7%的研究实施了盲法,2.3%的研究进行了样本量计算。因此,这些在方法设计方面存在局限性的研究,不仅无法为研究者提供有用且可靠的临床前动物实验结论,而且导致了不必要的动物痛苦和浪费。动物实验的实施过程涉及诸多环节,每个环节都会在一定程度上影响实验结果的科学性。虽然,荷兰动物实验系统评审中心(systematic review center for laboratory animal experimentation, SYRCLE)在2014年发布了全球首个针对动物实验的内部真实性的SYRCLE偏倚风险评估工具<sup>[5-6]</sup>,但该工具并不能解决动物实验设计、实施过程中的全部问题<sup>[7-8]</sup>。此外,2010年英国3R中心发布全球首个动物实验报告指南—ARRIVE (animal research: reporting *in vivo* experiment),但该报告指南旨在帮助研究人员充分报告实验全过程,以便其他研究者可以评估和复制其实验结果<sup>[9]</sup>,其核心作用是确保动物实验报告的透明度和全面性,并不能从根本上提高动物实验的方法质量、可转化性和可重复性<sup>[10-11]</sup>。动物实验设计不仅仅包含操作步骤,还涉及动物福利、法律法规、伦理审查、风险评估、数据管理等各个方面<sup>[12]</sup>。因此,研究人员需要在开始动物实验之前进行充分的准备和计划,以遵循“3R原则”(减少、替代、优化),避免不必要的动物使用和实验错误。

因此,为帮助研究人员进行高质量的动物实验研究方案的规划与设计,挪威国家共识平台于2015年制定了一套专门用于动物实验的研究计划指南(planning research and experimental proce-

dures on animals: recommendations for excellence, PREPARE),这是一部综合性的针对动物实验的计划指南,涵盖了从动物实验构思、方法设计到实施各个步骤所要注意的具体问题,其主要作用是帮助研究者在开始动物实验之前进行充分的准备和计划,以确保研究的质量和可重复性,同时减少不必要的动物使用和痛苦,保护动物福利<sup>[13-14]</sup>。

本文将详细介绍PREPARE指南的相关内容,并对其条目进行详细解读,为国内学者设计和实施动物实验提供方法学参考,以提高动物实验结果的真实性和可靠性。

## 1 PREPARE指南基本信息

### 1.1 引用现状

目前,全球已有许多科研机构和委员会<sup>[13]</sup>(如美国国立卫生研究院、德国中央独立研究基金会动物保护和实验委员会、美国国家卫生与医学研究委员会、瑞典中央动物实验伦理委员会等),学术组织(如荷兰拉德堡德大学动物实验系统评价研究中心、瑞典农业委员会的3R中心等),学术期刊(如《精神药理学杂志》,《小儿泌尿外科杂志》等)和知名大学(如荷兰乌得勒支大学、英国莱斯特大学、瑞士苏黎世大学、瑞士洛桑大学、瑞典隆德大学、英国爱丁堡大学等)都已经开始鼓励、支持、采纳和应用PREPARE指南,以利于制定良好的动物实验研究设计方案,帮助改进动物实验。

### 1.2 PREPARE指南内容及条目解读

PREPARE指南主要包括研究计划制定、实验研究人员与动物实验室团体协作的构建、实验过程的质量控制3个方面,包含15个条目和42个亚条目,包含了动物实验设计时需要考虑的所有问题,内容详见表1。

### 1.3 适用范围和作用

PREPARE指南主要用于确保动物实验准备和计划过程的规范性,该指南与ARRIVE指南和SYRCLE动物实验偏倚风险评估工具的区别详见表2。

表1 PREPARE指南内容

条目	内容			
研究计划制定	1. 文献检索	1a. 实验开始前形成明确的假设, 以及实验的主要和次要测量指标 1b. 查阅相关系统评价文献, 确定开展该实验的必要性 1c. 确定预检索的数据库, 咨询检索专家确定检索词及检索策略 1d. 评估拟使用的实验动物物种的自身特性和相关性是否与实验相契合, 是否可以在最大程度上降低实验动物的痛苦, 达到动物福利的要求 1e. 评估实验的可重复性和可转化性		
	2. 法律问题	2a. 需考虑当地动物实验相关的法律和动物运输、职业健康及安全等方面的要求对拟开展动物实验的影响 2b. 查找当地法律指导文件		
	3. 伦理问题、有害效益评估和人道终点	3a. 编写通俗性概要, 说明实验中的“替换、减少、改进”3个方面的问题是否得到解决 3b. 与伦理委员会进行充分讨论之前, 考虑是否其已有相关研究的声明 3c. 说明“3Rs”(替代、减少及优化)和“3Ss”(严谨的实验设计、丰富的常识和敏锐的同理心)方面的问题 3d. 考虑研究方案预注册以及阴性结果的发表问题 3e. 执行损害评估, 对可能发生的动物伤害作出合理解释 3f. 动物的使用是否以教育和培训为目的, 若是, 应明确目的 3g. 评估该实验手术过程中以及手术结束后对动物伤害的严重程度等级 3h. 定义客观的、易于测量和明确的人道结局指标, 例如, 体温、体重、行为变化等 3e. 说明将死亡作为结局指标的理由和合理性(如有的话)		
	4. 实验设计和统计分析	4a. 考虑预实验、统计方法和显著性水平 4b. 定义实验单位并确定动物数量 4c. 选择随机化的方法, 减少选择偏倚, 并确定详细的实验动物纳入和排除标准		
	实验研究人员与动物实验室团体协作的构建	5. 目标和时间表、资金及分工	5a. 若有实验早期计划, 安排所有参与人员进行商讨, 这有助于动物护理人员、技术人员等了解该实验, 避免产生误解 5b. 制定一个实验进程的时间规划表, 并注明在实验准备、动物护理、手术阶段和废物处理及净化等方面需要的协助 5c. 讨论并公布所有预期费用和可能的潜在费用 5d. 在实验的整个过程中, 明确界定详细分工以及费用支出, 并达成书面协议	
		6. 实验室评估	6a. 对实验设施进行检查, 评估其适用性及安全性 6b. 评估发生额外风险时的应急措施及人员配备	
		7. 教育与培训	在实验前, 评估工作人员的能力和是否需要对工作进一步的教育和培训	
		8. 健康风险、废物处理和去污	8a. 对所有受实验直接或间接影响的人员和动物进行风险评估 8b. 评估实验所有阶段可能存在的风险, 在必要时制定具体的指导 8c. 详述实验中所有实验废物的收纳、净化和处置方法	
		9. 待测样品和测试程序	9a. 尽可能多地提供待测样品的信息, 例如: 来源、纯度、溶解度和批号, 以及实验前是否需要预处理、储存条件、接触的危害等 9b. 评估测试程序的可行性和有效性, 以及实施所需的专业技能	
		10. 实验动物	10a. 明确对实验研究和报告至关重要的一些动物特征 10b. 避免动物过剩	
		11. 检疫和卫生监测	详述动物可能出现的健康状况, 以及动物运输、检疫隔离、健康监测对工作人员的影响	
		实验过程的质量控制	12. 用房和资源管理	12a. 与专家沟通, 关注动物特性和动物需求, 如居所和饲养条件等 12b. 对环境适应、最佳居住条件和实验时间、环境因素以及对这些因素的任何限制(如食物匮乏、单独饲养)加以讨论
			13. 实验程序	13a. 对于实验动物的抓取、固定、标记、释放和重新归位等操作制定出优化的程序 13b. 制定药物管理、取样、镇静和麻醉、手术和其他技术的优化程序
			14. 以人道原则处死、释放、重新使用或重新归位	14a. 在实验开始之前, 应及早查阅相关立法及指南 14b. 确定依据人道原则处死动物的首要和应急方式 14c. 对相关从业人员的能力进行评估
	15. 尸体检验		为尸检的各个阶段制定系统的计划, 包括动物和样本的位置和识别	

表2 动物实验相关指南/工具基本信息

指南/工具	发布时间	制定机构	适用领域	作用
PREPARE 指南	2015年	挪威国家共识组	所有类型的动物研究, 包含实验设施的管理	在实验之前, 对动物实验进行详细的规划, 以确保研究的方法质量和可重复性, 同时减少不必要的动物浪费和痛苦
ARRIVE 指南	2010年 (第1版); 2019年 (第2版)	英国国际实验动物 3R 中心	生物科学领域, 所有活体动物 (从哺乳动物到鱼类以及无脊椎动物) 的任何研究	确保动物实验报告的透明度和全面性
SYRCLE 动物实验偏倚风险评估工具	2014年	荷兰拉德堡德大学动物实验系统评价研究中心	干预性动物实验研究	评估动物实验的内在真实性, 降低偏倚风险, 提高其结果向临床实践转化的效率

## 2 讨论

由于动物疾病模型与人类疾病之间存在较大的差异, 动物实验结果的转化率和可重复性非常低, 造成大量的动物浪费和痛苦<sup>[15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>表明, 每年92%的通过临床前测试的药物都未能获准上市, 其中一些药物曾被认为具有巨大的应用潜力, 可见动物实验的质量至关重要。一项好的科学研究往往始于设计阶段, 因此必须在设计阶段把好关。

PREPARE 指南可在实验设计阶段起到关键作用。PREPARE 指南包括研究计划制定、实验研究人员与动物实验室团体协作的构建、实验过程的质量控制3个方面, 其中有许多需要注意的问题。例如在研究计划制定时建议查阅相关系统评价文献, 以确定进一步开展研究的必要性, 同时, 系统评价研究可以有效帮助研究人员选择最合适的动物模型, 确定时间短、低损伤程度的动物操作以及提供动物使用数量参考, 这均有助于动物福利<sup>[17]</sup>。目前, 对动物实验进行系统评价已被认为是探索提升其结果对临床研究的指导价值并降低其转化过程中发生生物学风险的有效途径<sup>[18-19]</sup>。

在实验研究人员与动物实验室团体协作的构建方面, 对实验总体资金预算的统筹是规划动物研究的重要组成部分, 为了避免经济问题方面存在分歧, 导致动物福利或健康安全的损害, 应公布和讨论项目所有阶段的资金预算, 包括意外事件的应急预算。而且必须有足够的资源来确保动物的福利需求, 不仅在实验期间得到保障, 还要在实验之前和之后都得到保障。其次, 动物实验

通常不是孤立进行的, 对实验室设备的清晰了解, 对实验室技术人员的培训也很重要, 这将有助于实验整体的质量控制。

此外, PREPARE 指南强调了风险评估和法律法规的重要性。风险评估不仅仅包括对动物实验程序中动物可能出现风险的评估, 也包括所有受实验直接或间接影响的人员。因为许多健康危害(例如微生物和辐射)具有隐匿性, 难以检测, 直接或间接使用动物或实验材料均会对操作人员的健康造成潜在危险。同时, 对实验风险进行把控的一个必要措施便是进行预实验, 因为预实验不仅有助于提高正式实验的质量和效率, 还可以揭示实验设计中存在的缺陷或问题, 节省时间、避免不必要的动物浪费。此外, 在不同地区开展动物实验之前必须要了解当地的法律法规, 查询相应指导文件, 避免因触犯相关法律导致的损失。

PREPARE 指南涵盖了动物实验过程中质量控制的所有阶段, 从动物设施的管理到整体实验程序的把控, 适合所有类型的动物实验。PREPARE 属于非强制性规定, 旨在帮助研究人员在开始动物实验之前制定一个详细的计划, 避免实验过程中出现不必要的错误, 从而在很大程度上降低动物实验的偏倚风险, 降低动物实验向临床试验转化过程中的生物学风险, 提高其转化率。

但 PREPARE 指南也存在不足之处, 例如只对动物实验的设计环节进行把控, 并不针对实验的部分环节, 所以单独运用 PREPARE 指南不能从根本上解决动物实验的可重复性和转化问题, 还需要其他工具(如 ARRIVE 指南、SYRCLE 动

物实验偏倚风险评估工具)加以辅助。

因此,为了提高动物实验的质量和可重复性,减少动物的痛苦和浪费,以及促进国内实验动物学科的发展,建议国内的研究者在设计、进行动物实验时联合运用PREPARE指南及其他工具,同时建议相应机构以及期刊加强对动物实验指南的引入以及对研究者的教育。相信通过对PREPARE指南的介绍能够引起科学家们对动物实验设计阶段需要考虑的问题的重视,从而提高临床前期动物实验的质量。

### 参考文献

- [1] Hooijmans CR, Geessink FJ, Ritskes-Hoitinga M, et al. A systematic review and meta-analysis of the ability of analgesic drugs to reduce metastasis in experimental cancer models[J]. *Pain*, 2015, 156(10): 1835-1844.
- [2] Freedman LP, Cockburn IM, Simcoe TS, et al. The economics of reproducibility in preclinical research[J]. *PLoS Biology*, 2015, 13(6): e1002165.
- [3] Camus S, Ko WK, Pioli E, et al. Why bother using non-human primate models of cognitive disorders in translational research?[J]. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2015, 124: 123-129
- [4] Ramirez FD, Motazedian P, Jung RG, et al. Methodological rigor in preclinical cardiovascular studies: targets to enhance reproducibility and promote research translation[J]. *Circulation Research*, 2017, 120(12): 1916-1926.
- [5] 陈匡阳, 马彬, 王亚楠, 等. SYRCLE动物实验偏倚风险评估工具简介[J]. *中国循证医学杂志*, 2014, 14(10): 1281-1285.
- [6] Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies[J]. *BMC Medical Research Methodology*, 2014, 14: 43.
- [7] 张维益, 李艳飞, 戴岩瑞, 等. SYRCLE偏倚风险评估工具发布是否提高动物实验方法质量[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(10): 1165-1168, 1173.
- [8] 姜彦彪, 陈静红, 曾宪涛, 等. SYRCLE动物实验系统评价研究方案简介[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(2): 1-147.
- [9] Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0[J]. *PLoS Biology*, 2020, 18(7): e3000411.
- [10] 尚志忠, 姜彦彪, 赵冰, 等. 动物实验报告规范——ARRIVE 2019简介[J]. *医学新知*, 2020, 30(4): 285-290.
- [11] Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research[J]. *PLoS Biology*, 2020, 18(7): e3000410.
- [12] Williams M, Mullane K, Curtis MJ, et al. Addressing reproducibility: Peer review, impact factors, checklists, guidelines, and reproducibility initiatives[J]. In *Research in the Biomedical Sciences*, 2018: 197-306.
- [13] Smith AJ, Clutton RE, Lilley E, et al. PREPARE: Guidelines for planning animal research and testing[J]. *Lab Animal*, 2018, 52(2): 135-141.
- [14] Smith AJ, Norecopa. A global knowledge base of resources for improving animal research and testing[J]. *Frontiers In Veterinary Science*, 2023, 10: 1119923.
- [15] Ritskes-Hoitinga M, van Luijk J. How can systematic reviews teach us more about the implementation of the 3Rs and animal welfare[J]. *Animals (Basel)*, 2019, 9(12): 1163.
- [16] Michael N. Translating laboratory tests into clinical practice: A conceptual framework[J]. *Hämostaseologie*, 2020, 40(4): 420-429.
- [17] Pound P, Ritskes-Hoitinga M. Can prospective systematic reviews of animal studies improve clinical translation?[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2020, 18(1): 15.
- [18] Ritskes-Hoitinga M, Leenaars C, Beumer W, et al. Improving translation by identifying evidence for more human-relevant preclinical strategies[J]. *Animals*, 2020, 10(7): 1170.
- [19] Robinson NB, Krieger K, Khan FM, et al. 2019. The current state of animal models in research: A review[J]. *International Journal of Surgery*, 2019, 72: 9-13.

(责任编辑: 李晓炜)