

空间啮齿类动物培养装置及实验技术研究进展*

张晶晶^{1,3,4} 吕勇^{1,3,4} 张涛² 刘方武²

1(中国地质大学自动化学院 武汉 430074)

2(中国科学院上海技术物理研究所 上海 200083)

3(复杂系统先进控制与智能化湖北省重点实验室 武汉 430074)

4(地球探测智能化技术教育部工程研究中心 武汉 430074)

摘要 空间动物实验是人类空间生命科学研究的重要组成部分。一直以来,空间动物实验为探索地球生物体在航天环境中的生命现象及活动规律、支持载人航天的可持续性发展做出了重要贡献。随着航天工程的发展,航天员在空间驻留的时间越来越长,为解决人类在空间旅行中的健康问题,各国先后开展了空间啮齿类动物实验,研究空间环境给生命体带来的影响,为人类空间飞行提供重要的生理和医学数据。本文研究了国外主流的空间啮齿类动物培养装置,根据各类装置培养动物的存活情况及死亡原因,提出装置的不足与可改进之处;深入分析空间啮齿类动物实验发射前、在轨、返回地面阶段的相关实验技术,为中国空间啮齿类动物培养装置设计及动物实验提供参考。

关键词 空间飞行, 啮齿类动物, 培养装置, 实验技术

中图分类号 V7

Research Progress of Spaceflight Rodent Culture Devices and Experimental Techniques

ZHANG Jingjing^{1,3,4} LÜ Yong^{1,3,4} ZHANG Tao² LIU Fangwu²

1(School of Automation, China University of Geosciences, Wuhan 430074)

2(Shanghai Institute of Technical Physics of the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200083)

3(Hubei Provincial Key Laboratory of Advanced Control and Intelligent Automation for Complex Systems, Wuhan 430074)

4(Engineering Research Center of Earth Exploration Intelligent Technology, Ministry of Education, Wuhan 430074)

Abstract Space animal experiments constitute an integral component of human space life science research. Historically, these experiments have made significant contributions to the exploration of the life phenomena and activity patterns of Earth-based organisms within the spaceflight environment, as well as to the sustainable development of manned spaceflight. With the development of aerospace engineering, astronauts stay in space longer and longer. To address the health problems of human spaceflight, rodent

* 国家重点研发计划项目资助 (2021YFA0719303)

2023-09-04 收到原稿, 2023-10-26 收到修定稿

©The Author(s) 2024. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

spaceflight experiments have been carried out to study the effects of the space environment on living organisms, thereby providing crucial physiological and medical data for human spaceflight. In this work, the spaceflight rodent culture devices developed by foreign countries are investigated. The rodents' survival status and the causes of death are analyzed, and the shortcomings and improvements of the culture devices are summarized. Then the relevant spaceflight rodent experimental technologies, including before launch, in orbit, and after returning to the ground, are investigated. This work aims to provide references for the design of China's spaceflight rodent culture devices and rodent experiments.

Key words Spaceflight, Rodents, Culture device, Experimental technique

0 引言

20 世纪中后期, 各国陆续开展了对外层空间的探索, 1998 年国际空间站 (International Space Station, ISS) 完成设计并开始建造, 在 ISS 上可以开展空间生物学、空间物理学、空间材料等多种科学实验^[1], 同时航天员在空间环境中的驻留时间也越来越长. 研究表明, 航天员在空间长期受到强辐射和微重力影响, 会产生严重的免疫系统缺失、肌肉萎缩、骨质疏松、视力衰弱、心血管功能失调、神经系统受损等健康问题^[2-5], 对人体进行健康检查难以深层理解微重力环境对人体造成以上影响的生理机制. 啮齿类动物具有体积小、能携带的数量多、科学投入产出比高、与人类遗传相似度高的特点, 是开展相关机理问题研究的优选实验研究对象.

1961 年法国航天局成功将一只小鼠发射入空间并带回地面, 1975 年美国国家航空航天局 (National Aeronautics and Space Administration, NASA) 与苏联联合开展了生物-3 (Bion-3) 任务^[6], 采用啮齿类动物进行航天飞行试验, 此后欧洲、日本等国家及地区也先后开展了空间啮齿类动物实验. 美国国家航空航天局 (NASA)、意大利航天局 (Agenzia Spaziale Italiana, ASI)、俄罗斯生物医学问题研究所 (Russian Institute of Biomedical Problems, IMBP)、日本宇宙航空研究开发局 (Japan Aerospace Exploration Agency, JAXA) 先后设计并发射了啮齿类动物培养箱^[7-10], 开展空间啮齿类动物实验, 研究啮齿类动物 (主要为小鼠、大鼠) 在空间环境中的生理状态变化, 包括免疫功能、神经系统和前庭功能、骨骼和肌肉功能、消化系统和血管功能以及运动行为等.

中国自 20 世纪 80 年代起开展了一系列空间生命科学实验^[11]. 1990 年发射的返回式生物卫星 FSW-

1-3 搭载了豚鼠, 并在 8 天后成功返回; 2006 年发射的实践八号卫星成功实时获得了小鼠胚胎显微照片, 照片显示胚胎并未发育^[12]; 2016 年实践十号卫星首次展示并验证了空间环境下哺乳类动物早期胚胎能够从 2-细胞发育到囊胚阶段的全过程^[13]. 2022 年基于天宫一号和天宫二号空间实验室的成功经验, 由天和核心舱与梦天、问天实验舱等组成的中国天宫空间站正式建成^[14], 可开展长期在轨驻留的空间应用和新技术试验. 本文在前期研究^[15]基础上, 分析了国外各类空间啮齿类动物培养装置的不足及改进方案, 总结了空间啮齿类动物实验发射前、在轨、返回地面相关实验技术, 以期为中国空间生物实验提供参考, 对中国发展空间啮齿类动物实验提出建议.

1 啮齿类动物培养装置

生命体在空间中会处于失重状态, 细胞的生命活动也会受到影响^[16]. 多数啮齿类动物实验在空间站或返回式卫星上进行, 例如国际空间站 ISS 和俄罗斯的无人卫星 Bion, 因此 NASA、IBMP 和 ASI 为执行空间任务设计了啮齿类动物培养箱, 研究表明这些培养箱的内部环境对啮齿类动物的生理和行为有着重要影响^[17,18].

1.1 美国研发的 RAHF, AEM, RHHS

啮齿动物研究饲养设施 (Rodent Research Animal Holding Facility, RAHF) 是 NASA 早期研制的多功能动物生命保障系统, 包括饮食、电力、环境管理 (Environmental Control System, ECS)、数据和控制系统^[19]. 如图 1 所示^[20], RAHF 的饲养笼模块有 12 个饲养笼, 每个饲养笼可独立饲养 2 只啮齿类动物. 早期的 RAHF 在使用中暴露出两个主要问题: 动物气味泄露以及排泄物、食物残渣污染. 改进后, 通

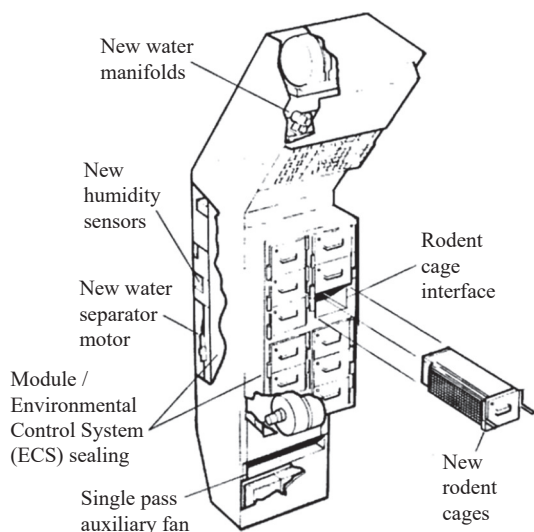


图 1 美国 NASA 研发的 RAHF

Fig. 1 RAHF developed by NASA

过增加 O 型密封垫片, 可有效防止气体和固体颗粒物外泄. 污染物处理装置为多层纤维结构, 抑制氨的生成和气味的释放^[21], 固体污染物由循环空气干燥后被 ECS 系统收集, 并用单通道辅助风机过滤污染物. RAHF 在 STS-40/58/59 等多项任务中完成了对大鼠和新生小鼠的培养实验, 并有效处理污染物^[22].

NASA 研制了动物围栏模块 (Animal Enclosure Module, AEM), 如图 2 所示^[19], 从 1983 年至 2011 年, AEM 执行了 27 次航天飞行任务^[23].

AEM 可以搭载 6 只 250 g 的大鼠或 20 只小鼠, 并提供包括水、食物及新鲜空气^[24] 等生保条件. 相比 RAHF, AEM 四周的网格墙壁可以满足啮齿动物在空间中攀爬移动的需求, 可见光和红外视频采集系统允许航天员及地面每日监测啮齿动物的行为和整体健康状况^[25,26]. 此外, AEM 还配备了温度和湿度传感器, 采集的数据用 Lab View 软件记录. 此外 NASA 还设计了专用于微重力空间的恒定气流控制装置, 将动物尿液及排泄物吸入过滤器^[20].

啮齿动物生活硬件系统 (The Rodent Habitat Hardware System, RHHS) 是基于 AEM 开发的新系统, 主要由栖息地模块 (Rodent Habitat, RH)、运输模块 (Rodent Transporter, RT) 和动物获取单元 (Animal Access Unit, AAU) 组成, 如图 3 所示^[27]. 运输模块通过 SpaceX Dragon 飞船将啮齿动物运送至空间站, 在飞船与空间站对接完成后, 机组人员使用动物转移通道单元将啮齿动物转移到栖息地模块中.

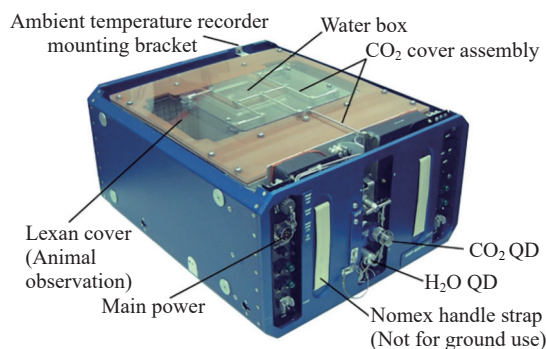


图 2 美国 NASA 研发的 AEM

Fig. 2 AEM developed by NASA



图 3 美国 NASA 研制的 RHHS

Fig. 3 RHHS developed by NASA

栖息地模块可通过隔板分为两部分, 每部分最多容纳 10 只小鼠或五六只大鼠, 内部包含金属网笼、温湿度传感器、白光 LED、红外照明和长时间除臭过滤器, 顶部废水过滤器和饮水器旁各有一个访问端口, 可连接相机进行视频记录. 迄今为止, RHHS 已经开展了 20 多次啮齿类动物研究 (Rodent Research, RR), 包括微重力对肌肉^[28]、骨骼^[29-31]、大脑和心血管^[32]、消化系统^[33]、神经系统^[34] 以及生物昼夜节律^[35] 影响的研究.

1.2 意大利研发的 MDS

意大利航天局 (ASI) 与泰雷兹·阿莱尼亚航天 (Thales Alenia) 合作, 共同设计的小鼠抽屉系统 (Mice Drawer System, MDS) 在 2009 年 STS-128 任务中随发现号飞船发往国际空间站, 如图 4(a) 所示^[8]. MDS 允许 6 只小鼠单独生活 100 天, MDS 主要由以下子系统组成: 小鼠室、液体处理子系统、食物输送子系统、空调子系统、照明子系统、观察子系统以及有效载荷控制单元.

小鼠室分为 2 个子室, 每个子室可供 3 只小鼠生存, 如图 4(b) 所示^[8], 每个子室四周均为网格, 且不同子室内的小鼠只可嗅觉接触, 无法触碰. 饮水系统主

水箱容量为 0.5 L, 每 10 天须补水一次, 由商用阀杆驱动饮用阀 (美国 Edstrom 制造) 将饮用水单独输送到每个笼子. 每个子室有两条食物棒, 总质量约 90 g. 食物输送量和时间可使用计算机编程控制, 相对湿度控制通过集成在垃圾过滤器中的干燥剂实现^[8].

拍摄到的视频可以近乎实时地传输到地面, 以便检查小鼠健康状况、行为并观察箱内环境和食物消耗^[8]. 相比同时期的 AEM 和 RAHF, MDS 的主要优势在于提供可操作的接口并延长了培养箱的使用时间, 其缺点在于容纳的啮齿动物数量有限. 本次任务创造了小鼠空间生存 91 天的历史纪录, 在重力对转基因的影响及遗传机制对骨量病理的影响方面取得了研究成果^[36,37]. 在 MDS 运行的 3 个月期间, 3 只小鼠因航天飞机升空时发生脊髓病变、食物输送系统故障等原因死亡, 剩余 3 只小鼠产出的数据可参考性相对减少.

1.3 俄罗斯研发的 BOS

俄罗斯生物医学问题研究所 (IMBP) 于 2013 年发射的 Bion-M1 生物卫星成功飞行了 30 天. 为此设计的栖息地供应单元 (Block Obespecheniya Soderzhaniya, BOS) 包含 5 个栖息地隔间, 其内部结构如图 5(a) 所示^[9]. 每个 BOS 栖息地最多容纳 3 只小鼠, 其内部是一个圆筒状结构, 筒一端安装了不锈钢喂食器, 3 只小鼠每天共喂食 54 g. 照明灯泡、摄像机和通风系统位于筒壁一侧, 摄像机安装于两灯泡之间, 每日常录像 6 次 (每次 2 h, 每秒 8 帧), 筒壁另一侧的网格用于清除废物^[38]. 图 5(b) 展示了摄像头拍摄到的 3 只小鼠在 BOS 中的生存情况.

与当时空间实验主流使用雌性小鼠不同, bion-m1 任务中使用的是雄性小鼠^[39]. 在这项长达 30 天的无人驾驶、自动化操作任务中, 在空间中成群饲养雄性小鼠是一项具有挑战性的任务. 最终因喂食系统的

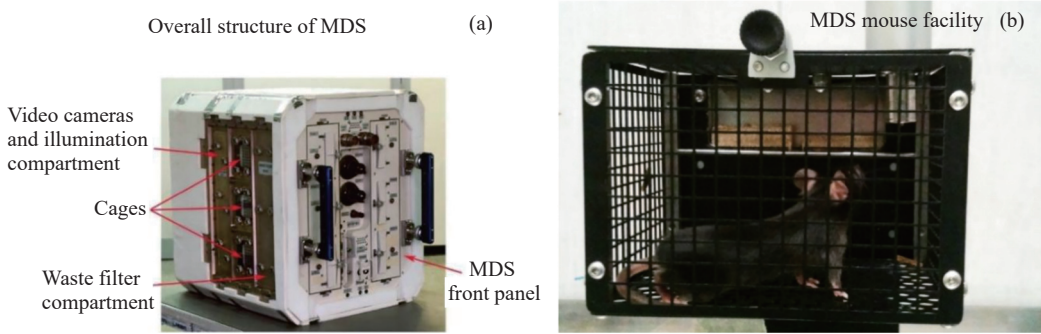


图 4 意大利 ASI 研制的 MDS
Fig. 4 MDS developed by ASI

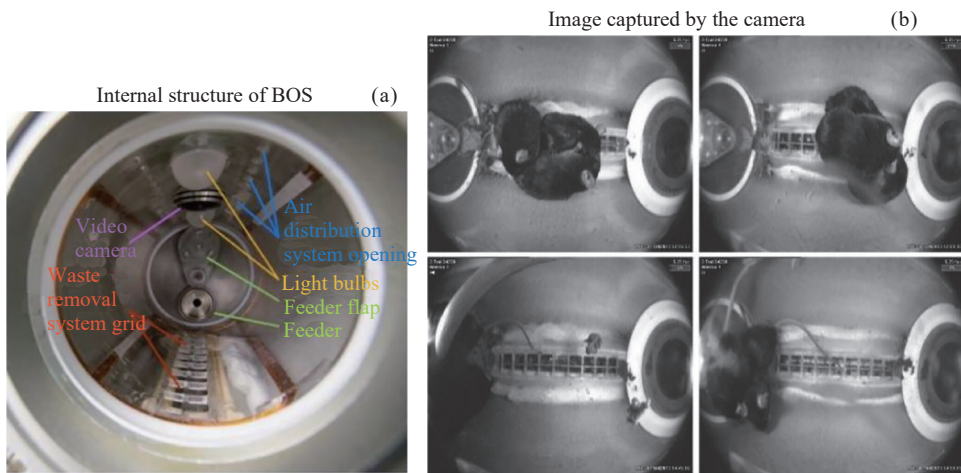


图 5 俄罗斯 IBMP 研发的 BOS
Fig. 5 BOS developed by IBMP

故障以及雄性小鼠的群居打斗行为导致 45 只小鼠中仅 16 只存活. 这些现象表明, BOS 栖息地内的运动部件存在潜在风险, 应避免小鼠直接接触任何活动的部件^[9].

1.4 日本研发的 HCU

除欧美国家的空间啮齿动物培养箱外, 2016 年日本宇宙航空研究开发局 (JAXA) 开发了新型动物实验平台——多重人工重力系统^[40] (Multiple Artificial-gravity Research System, MARS, 见图 6c), 并设计了小鼠栖息笼单元 (Habitat Cage Unit, HCU, 见图 6a) 和运输笼单元 (Transportation Cage Unit, TCU, 见图 6b), 用于小鼠在空间站和运输过程中的培养^[41]. MARS 通过 ISS 上日本实验舱 (Kibo) 中配备离心机的生物实验设施 (Centrifuge-equipped Biological Experiment Facility, CBEF, 见图 6d) 提供微重力 (Micro-G, MG) 和人工重力 (Artificial-G, AG), 排除微重力之外的因素对小鼠造成的影响, 并研究发射和返回阶段的振动与冲击对小鼠的影响^[42].

MARS 的 MG 和 AG 部分均可同时容纳 6 个 HCU. 每个 HCU 允许一只小鼠居住, 如图 5(a) 所示,

并配备了 1 个食物盒、1 个饮水系统、1 个气味过滤器、2 个通风风扇、1 个废物收集设备、1 个 LED/IR 摄像机 (8.47 mm 的逐行扫描 CCD 图像传感器, 像素为 768 pixel×494 pixel), 相机镜头处安装有雨刷器, 可清除镜头污染物, 保证视频清晰度; 视频数据经过模数转换后, 以 $6 \text{ Mbit}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速率传输到地面; 通风由风扇产生的气流维持, MG 和 AG 的通风量与气流速率差异可忽略不计; 笼壁上的纸片能够快速吸收笼中的废弃液体, 其上涂有光催化热喷雾, 有除臭、抗菌的作用; 照明昼夜循环以 12 h 为间隔, 每两周更换过滤设备, 每周补充一次食物和水. 一次任务准备 24 个 HCU, 其中飞行试验使用 12 个, 剩余 12 个备用. 如图 5(b) 所示, TCU 也配备了类似 HCU 的食物盒、饮水系统、气体过滤器、两个风扇、废物收集设备、昼夜循环 LED 和吸水纸片及除臭、抗菌喷雾.

实验结果表明, 与人工重力组小鼠相比, 微重力组小鼠耗水量更高、体重增加更低, 人工重力组小鼠体重增加略小于地面组小鼠, 这可能与小鼠在发射和返回阶段受到的冲击和振动有关. 此外, 返回地面后的空中翻正反射测试与旋转测试表明, 微重力组小鼠

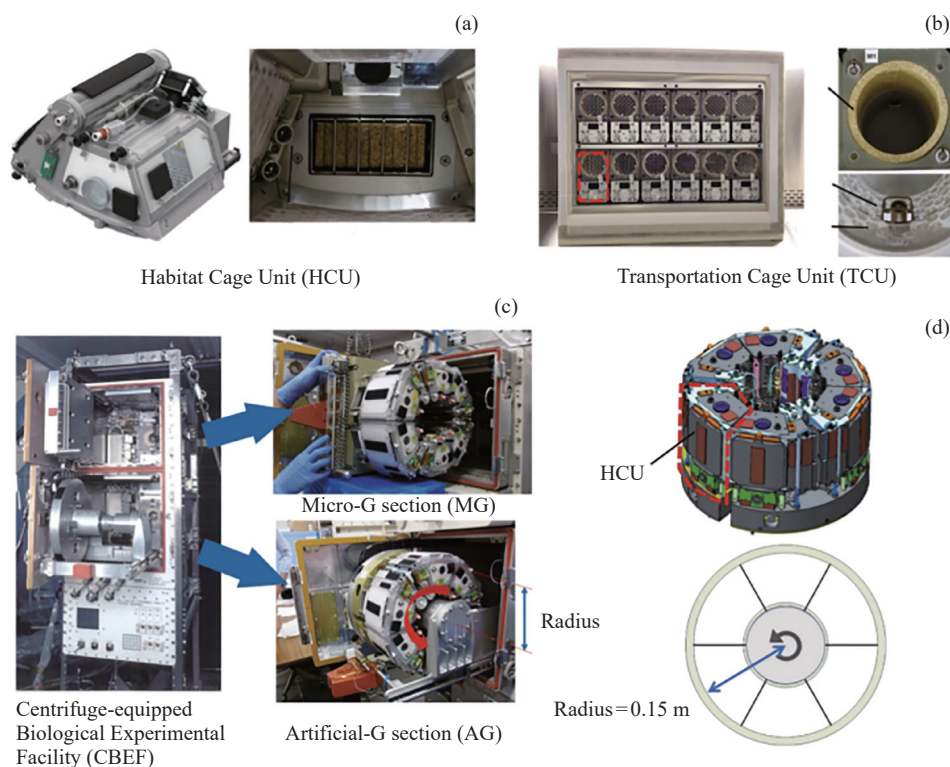


图 6 日本 JAXA 研发的 HCU, TCU 和 MARS

Fig. 6 HCU, TCU, and MARS developed by JAXA

空间自我定位感受损,且人工重力组和微重力组小鼠的旋转能力明显弱于 GC 小鼠、运动协调明显受损.对肌肉和骨骼的研究也发现,通过施加人工重力能够明显抑制微重力环境导致的比目鱼肌、腓肠肌重量的减少和骨质流失^[42].本次任务中 HCU 中出现了 4 次漏水情况,原因是饮水装置相关的部件由两种不同的材料(铝和不锈钢)组成,二者间的缝隙腐蚀和电解腐蚀产生的颗粒破坏了水喷嘴的密封性.

1.5 分析

上述 4 个国家设计的啮齿动物培养设备在小鼠选择、培养方式、培养数量和时间、食物和水供应等

方面均有不同之处,如表 1 所示.目前国外使用的空间培养装置主要由三部分组成,即运输装置、栖息地装置、转移通道装置.装置的模块化设计方便机组人员对装置内的小鼠进行操作.运输装置用于搭载小鼠发射和返回地面,此阶段需注重防撞和防振动措施,并观察小鼠对高空环境的适应情况.栖息地装置需在空间站完成自动化操作,航天员仅需定期补充水和食物,更换过滤装置,记录 O₂ 和 CO₂ 等气体浓度.装置内的视频模块需要配备自动清洁装置,如雨刷或卷帘清洁等,并将视频数据实时传输至地面,以便地面专家进行每日健康检查.转移通道装置用于啮齿动物在

表 1 各国啮齿类动物培养装置的对比
Table 1 Comparison of rodent animals in various countries

航天局	美国NASA			意大利ASI	俄罗斯IBMP	日本JAXA
硬件设备	RAHF	AEM	RHHS	MDS	BOS	HCU
应用时间	1985—1998年	1983—2014年	2014年至今	2008年	2013年	2016年
可容纳的小鼠数量	24只小鼠,每室2只	20只小鼠/6只大鼠,均分2室	20只小鼠/12只大鼠,均分2室	6只小鼠,每室3只	5只小鼠,每室3只	6只小鼠,每室1只
生存时长	7~14 d	7~35 d	7~30 d	91 d	30 d	37 d
食物投送	—	每室2个食物盘,4.57 cm×2.54 cm×4.57 cm食物条	每室2个食物盘,定制食物	每室2条食物条,每条90 g,自由采食	每室1个不锈钢喂食器,3只每日54 g	每室1个食物投送器,一周一换
饮水	9.5 L总容量	2 L加4 ppm碘的去离子高压灭菌水	加压水箱经 Lixit 喂水瓶供水	500 mL总容量,可在轨回收,自由采饮	—	含0.2 mg·L ⁻¹ 的高压灭菌自来水
墙壁	光滑墙壁	网格墙壁	网格墙壁	网格墙壁	光滑墙壁,网格过滤	光滑墙壁
光强度	—	12 h:12 h, 14 lux	12 h:12 h (昼:LED, 夜:红外)	12 h:12 h, 0~40 lx, 步长 10 lux	12 h:12 h, (昼:45 lx, 夜:5 lux, 红外)	12 h:12 h (昼:LED, 夜:红外)
相机监控	无,通过透明罩观察	每室2台相机,夜间红外	每室2台相机,夜间红外	每室1个,实时传输至地面	每室1个,每日2次,每次8 h,每秒6帧	雨刷器,1/3英尺隔行扫描CCD图像传感器
废物处理	O型密封垫片吸附固体颗粒物,单通道辅助风机除污染物	恒定气流控制装置,将尿液和排泄物吹入过滤器	除臭过滤器和废水处理器	垃圾过滤器,含干燥剂控制湿度	底部有废物清除网格	笼壁上的纸片能够清除废弃液体,其上涂有光催化热喷雾能除臭抗菌
存活比例及死亡原因	视具体项目而定	视具体项目而定	视具体项目而定	3/6,因升空时发生脊髓病变、食物递送系统故障死亡	16/45,因食物分配系统故障、群居打斗行为死亡	12/12,未发生死亡
优势	多层纤维结构吸附固体颗粒物	摄像机视频观察,红外光夜间观察	由AEM改进,增加RT、AUU模块,模块化更方便操作	视频数据实时传输,使用时间延长	群体饲养雄性小鼠,观察打斗事件出现的情况;遥测探头植入,监测精准	镜头雨刷,视频数据清晰;光催化热喷雾能除臭抗菌
不足与改进	无法获取视频数据,墙壁光滑不利于小鼠移动	没有主动热控制技术,密闭无法人为外部干预,需要设置外部接口一边操作和观察	浪费的水和食物被直接收集,无法区分真正消耗的量与浪费的量	携带数量过少,食物递送系统故障问题有待改善	平滑墙壁,小鼠运动受限,食物分配系统故障,不可让小鼠直接接触运动的机构	腐蚀颗粒破坏水喷嘴上的密封引起泄漏,单独饲养小鼠可能成为其压力来源,造成生理状况的影响

运输装置和栖息地装置间进行转移, 以免动物遗漏以致不必要的危险和破坏.

2 实验技术

空间啮齿类动物实验根据实验顺序, 大致可以分为发射前准备、在轨实验和地面测试三部分. 发射前通过模拟测试对培养装置进行充分验证, 确保实验动物能够在空间环境中达到预期的生存时间, 并且筛选合适的动物个体, 排除设备故障造成的动物死亡. 在轨进行相应操作, 检查啮齿动物在空间环境中生存的健康状态, 也进行必要的处理以便返回地面检测. 返回地面后, 对动物进行活体检测、解剖、处理并保存各组织器官, 以便进行更深入的研究.

2.1 发射前准备

发射前适应训练: 发射前, 将年龄适合的啮齿动物置于专门的装置中, 分为体重恢复阶段、水喷嘴适应阶段和飞行食物适应阶段这三个阶段, 使其适应飞行水喷嘴和飞行食物^[42], 同时测量并记录食物和水的消耗量及体重变化.

模拟飞行实验: 先将啮齿动物饲养在运输装置中(约 10 d), 模拟发射阶段; 再在栖息地装置中培养(30~45 d, 根据具体计划目标时间设定), 模拟在轨培养阶段; 最后返回运输装置(5 d 左右), 模拟返回阶段. 测量食物、水消耗量和体重变化, 并检查动物健康状况.

振动和冲击测试: 用振动测试设施对运输设备施加随机振动或冲击, 评估动物受到发射阶段振动和冲击的影响.

植入式遥测设备: 俄罗斯的 Bion-M1 任务执行前, 通过在动物腹侧的主动脉弓和皮下袋中放置导管和发射器, 将 PA-C10(由 Data Science International 研制) 探针植入小鼠体内^[43,44] (见图 7), 获取小鼠的血压、心率等信号. 观察到发射过程中、抵达空间站时和下降过程中的心率变化.

2.2 在轨实验

啮齿动物入轨后, 根据科学研究需求开展骨密度测量、握力测试、生理健康参数采集等测试, 开展麻醉及在轨解剖, 所用装置/系统具体如下.

骨密度计: 在轨道空间飞行期间, 需要对啮齿动物的骨骼和肌肉损失进行定量测量^[45]. 自 2015 年起, NASA 就在啮齿动物研究 (Rodent Research, RR)-2、

RR3、RR5 中利用设备检测啮齿动物的骨密度. 如图 8 所示^[27], 骨密度计 (Redwire Bone Densitometer, 由 TechShot 开发) 采用双能 X 射线吸收测定法 (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA), 通过测量啮齿类动物骨骼和软组织对两个关键 X 射线能量 (35 kV, 80 kV) 的吸收报告骨密度, 也可以快速确定软组织密度、脂肪比和总质量^[46].

握力计: 为衡量啮齿动物肌肉力量, 握力测试也被引入检测项目中^[47]. 图 9 为哥伦布仪器 (Columbus Instruments) 研制的握力计^[48], 通过感应动物在抓取专门设计的拉杆组件时施加的峰值力来评估神经肌肉功能. 首先让动物抓住前肢拉杆组件, 然后沿远离传感器的方向拉动物. 动物会在某个时候释放, 获得的最大力将存储在显示屏上. 再替换后肢组件, 同样使后肢抓握拉杆组件斜面拉至动物后肢脱离, 获得最大握力数据.

遥测数据收集系统: 利用植入式遥测设备, 俄罗斯 Bion-1 项目使用自动数据收集系统 (PhenoMaster, 由德国 TSE 研制) 获取有关微重力对相关生理系统影响的数据, 并跟踪飞行后重新适应地球重力的时间过程^[9] (见图 10^[49]).

动物健康包 (Animal Health Package, AHP): 用于监测科学实验啮齿类动物的健康及保障动物福

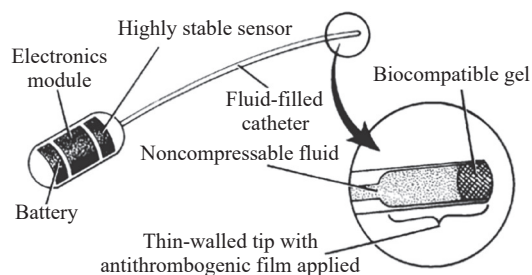


图 7 植入式遥测设备 PA-C10

Fig. 7 Implantable telemetry equipment PA-C10



图 8 骨密度计

Fig. 8 Bone densitometer

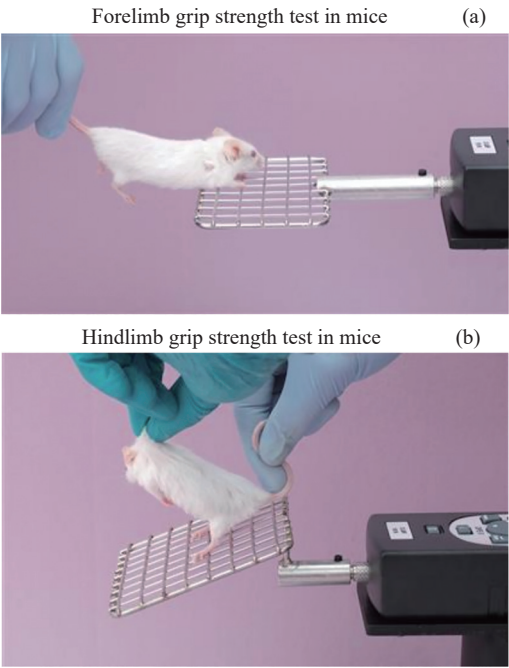


图 9 哥伦布仪器研制的握力计
Fig. 9 Grip strength meter developed by Columbus instruments



图 10 自动数据采集系统 PhenoMaster
Fig. 10 Automatic data acquisition system PhenoMaster

利, 其具体组成部分因任务要求和所研究的动物类型不同而有所不同. 该健康包中除包含一些常见物品 (栖息地、水和食物) 之外, 还包括监测设备 (温湿度传感器、视觉监测以及测量心率和呼吸等生命体征的传感器)、丰富的环境设施 (玩具、运动轮等, 促进动物行为和心理健康)、清洁和卫生用品 (消毒剂、湿巾及废物处理系统) 等.

麻醉恢复系统: 因为啮齿类动物在麻醉时间超过 5 min 且无热支持时体温迅速降低^[50], 所以在麻醉超过 5 min 及恢复期间需要为啮齿类动物提供温暖的



图 11 麻醉恢复装置 ARS
Fig. 11 Anesthesia recovery device ARS

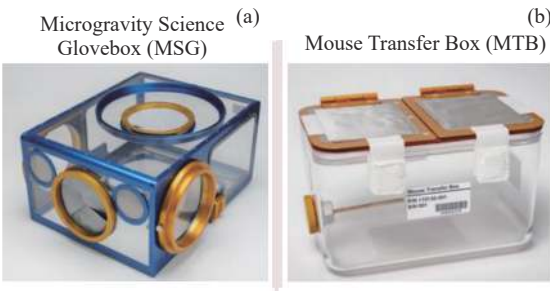


图 12 在轨解剖所用工具
Fig. 12 Tools used in rail anatomy

环境, 且热源加热范围不应超过麻醉恢复系统空间的 50%, 动物在恢复时需远离热源^[51]. 麻醉恢复期间需仔细检测以防止啮齿动物过热. 图 11 为 NASA 在 RR-3 任务中使用的麻醉恢复系统 (Anesthesia Recovery System, ARS)^[27].

在轨解剖: 在 NASA 的 RR-1 任务中, 航天员将小鼠从栖息地取出, 使用通风的小鼠转移箱 (Mouse Transfer Box, MTB) 转移至微重力科学手套箱 (Microgravity Science Glovebox, MSG). 这些动物通过腹腔注射 Euthasol^[52], 用无菌生理盐水 (1:1) 稀释 $1.72 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 实施安乐死, 并进行颈椎脱臼, 然后在 MSG 中解剖处理. 解剖小鼠右后肢, 并将取出的肝脏和脾脏^[53] 在 RNAlater (由 Thermo Fisher Scientific 研制) 中 4°C 保存 2 d, 然后在 -80°C 的低温冰箱冷冻保存. 由于空间站航天员每日可解剖的小鼠数量有限, 多只动物可以分批解剖. 图 12 为在轨解剖所用的解剖和转移设备^[54].

2.3 地面测试

部分活体动物返回地面后, 对其进行尿液检测、体重检测和行为观察. 空中翻正测试^[41] 用于检测动物神经系统和前庭功能: 每只动物都背向地面, 以脊

柱定向, 从约 8 cm 高度下降至附有缓冲物的地面两次. 同时用高速相机分析翻正的平均时间. 翻正测试后, 进行旋转能力试验^[41]: 旋转杆的速度从 $2 \text{ cycle} \cdot \text{min}^{-1}$ 逐渐增加到 $40 \text{ cycle} \cdot \text{min}^{-1}$, 测量动物在旋转杆上停留的时间.

此外, NASA 在 2017 年执行的 RR-9 任务中, 对返回的雄性 C57 BL/6 小鼠 (空间飞行 35 d 后) 进行了步态分析^[55]. 使用便携式 DigiGait 系统对左前肢进行了纵向步态分析 (见图 13^[55]). 通过检查小鼠在透明跑步机皮带上行走时的腹侧平面, 开展自动步态分析.

活体检测结束后, 对动物进行安乐死操作: 通过腹腔注射适量的全身麻醉剂^[54] (氯胺酮或甲苯噻嗪, 含量分别为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 用磷酸盐缓冲盐水稀释为 0.3 mL 溶液), 并用颈椎脱位或开胸术辅助完成安乐死. 此后对动物的所有器官和组织进行解剖 (即肝脏、肾脏、皮肤、肌肉、心脏、脾脏、眼睛、肾上腺、肺和大脑), 并储存在 -80°C 环境或 RNA 稳定溶液中.

2.4 分析

发射前测试主要包括啮齿类动物的适应训练与

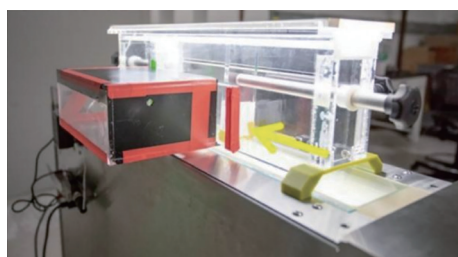


图 13 便携式 DigiGait 系统
Fig. 13 Portable DigiGait system

筛选, 并确保设备在发射、在轨、返回三个阶段的稳定性. 由于空间站环境的特殊性, 对动物健康状况的在轨监测相对复杂. 骨密度计和握力计用于测试动物的骨骼和肌肉能力; 动物健康包不仅保障动物的健康与福利, 而且可以促进动物的行为与心理健康; 数据收集系统对植入式遥测设备获取的数据进行处理并传回地面以便开展研究分析; 麻醉恢复系统保障动物在麻醉与恢复期间的健康, 在轨解剖操作完整处理和保存了各种组织和器官. 返回地面的测试包括尿液、体重、行为监测、空中扶正、旋转能力测试、步态分析等活体测试, 再对其进行安乐死并解剖所有组织和器官以开展后续分析. 表 2 列出了发射前、在轨和返回地面三个阶段采用的设备以及涉及该设备的具体项目、研究内容和实验环境.

3 结论与展望

随着人类对空间探索的不断深入, 航天员在轨停留时间加长, 空间极端环境引发的各种健康问题愈发严重, 空间啮齿类动物实验为系统探索航天飞行对生命体的影响做出了巨大贡献. 本文分析了国际上已开展的空间啮齿类动物实验, 总结了啮齿类动物培养装置设计的优势与不足, 并对研究骨骼、肌肉、神经系统、前庭功能和行为等健康状态的实验方法进行了总结, 提出如下建议, 为中国开展空间啮齿类动物实验提供参考.

(1) 动物选择. 当前阶段中国空间啮齿动物实验主要目标是验证培养设备的稳定性, 宜选择性情稳定的雌性动物, 保证动物间互动充足的同时降低群居情况下的打斗伤亡.

表 2 实验设备与研究内容

Table 2 Experimental equipment and research content

实验设备	参与任务	研究内容	实验环境
植入式遥测设备(PA-C10)	Bion-M1	监测血压、心率等	发射前植入, 全过程监测
骨密度计(Bone densitometer)	RR-1/3/5	测量骨密度、脂肪比、总质量	在轨检测
握力计	RR-3/6/19	测量四肢肌肉能力	在轨检测
遥测数据收集系统(PhenoMaster)	Bion-M1	遥测设备数据收集	在轨检测、地面测试
麻醉恢复系统(Anesthesia recovery system)	RR-3	为麻醉和恢复期的动物提供温暖环境	在轨检测、地面测试
在轨解剖系统(微重力手套箱)	RR-2/3/5/6	解剖组织器官以便地面分析	在轨操作
步态分析系统(便携式DigiGait系统)	RR-9	步态分析, 观察运动行为	地面测试

(2) 培养装置设计. 每个培养室容纳 2~3 只动物; 定量喂食物和水, 配合废物过滤系统, 统计食物和水的消耗; 可采用多层纤维结构配合风机吸附尿液和固体废弃物, 并通过光催化热喷雾除臭; 培养笼具设计为网格以便动物抓握运动; 视频监控通过镜头清理装置保持视频清晰, 夜间通过红外光摄像机观察; 所有运动机械应避免与动物直接接触, 以防止造成伤亡事故.

(3) 根据任务目标可采用相应的监测设备. 在空间站需要监测动物的生理参数, 可以通过植入式电极或基于视频的非接触式测量, 植入式电极可能对动物的健康状况具有一定影响, 但监测结果精准; 非接触式视频分析无需对动物进行干预且不会造成动物的不适与心理压力, 监测效率也有所提高, 但是其精确度有待提高. 动物的骨骼状况和肌肉能力监测可以通过骨密度计和握力计在轨测量. 在轨进行麻醉和手术时, 通过转移箱和手套箱, 避免对空间站环境造成影响. 麻醉恢复期间需将动物处置于温暖环境, 并监测体温, 以保证动物健康.

国际上早期的啮齿类动物实验装置由于生存保障条件和废物处理系统的限制, 无法进行大样本量的长期实验. 此外, 因为培养空间的限制和视频数据利用的不足, 对动物个体行为和社交活动的研究也难以展开. 中国空间站可开展长期在轨驻留的空间应用和新技术试验, 未来能够开展更系统、更复杂的空间啮齿类动物实验, 进一步探索空间极端环境下动物生理病理变化的机制, 研究辐射和微重力因素对动物免疫、神经、肌肉骨骼、运动、行为以及生殖等功能的影响.

参考文献

- [1] VOELS S A, EPPLER D B. The International Space Station as a platform for space science[J]. *Advances in Space Research*, 2004, **34**(3): 594-599
- [2] WNOROWSKI A, SHARMA A, CHEN H D, *et al*. Effects of spaceflight on human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte structure and function[J]. *Stem Cell Reports*, 2019, **13**(6): 960-969
- [3] BISSERIER M, BROJAKOWSKA A, SAFFRAN N, *et al*. Astronauts Plasma-Derived exosomes induced aberrant EZH2-Mediated H3K27me3 epigenetic regulation of the vitamin D receptor[J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2022, **9**: 855181
- [4] KRITTANAWONG C, SINGH N K, SCHEURING R A, *et al*. Human health during space travel: state-of-the-art review[J]. *Cells*, 2023, **12**(1): 40
- [5] GEORGE K, CHAPPELL L J, CUCINOTTA F A. Persistence of space radiation induced cytogenetic damage in the blood lymphocytes of astronauts[J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2010, **701**(1): 75-79
- [6] BALLARD R W, CONNOLLY J P. U. S. /U. S. S. R. joint research in space biology and medicine on Cosmos biosatellites[J]. *The FASEB Journal*, 1990, **4**(1): 5-9
- [7] SUN G S, TOU J C, YU D, *et al*. The past, present, and future of National Aeronautics and Space Administration spaceflight diet in support of microgravity rodent experiments[J]. *Nutrition*, 2014, **30**(2): 125-130
- [8] CANCEDDA R, LIU Y, RUGGIU A, *et al*. The Mice Drawer System (MDS) experiment and the space endurance record-breaking mice[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(5): e32243
- [9] ANDREEV-ANDRIEVSKIY A, POPOVA A, BOYLE R, *et al*. Mice in Bion-M 1 space mission: training and selection[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(8): e104830
- [10] SHIMBO M, KUDO T, HAMADA M, *et al*. Ground-based assessment of JAXA mouse habitat cage unit by mouse phenotypic studies[J]. *Experimental Animals*, 2016, **65**(2): 175-187
- [11] TANG Zhangcheng. Advances in space life sciences research[J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 1995, **10**(2): 128-133 (汤章城. 空间生命科学研究进展 [J]. 中国科学院院刊, 1995, **10**(2): 128-133)
- [12] MA B H, CAO Y J, ZHENG W B, *et al*. Real-time micrography of mouse preimplantation embryos in an orbit module on SJ-8 satellite[J]. *Microgravity Science and Technology*, 2008, **20**(2): 127-136
- [13] LEI X H, CAO Y J, MA B H, *et al*. Development of mouse preimplantation embryos in space[J]. *National Science Review*, 2020, **7**(9): 1437-1446
- [14] WANG Xiang, WANG Wei. Development and construction progress of the Tiangong space station in China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2022, **67**(34): 4017-4028 (王翔, 王为. 我国天宫空间站研制及建造进展 [J]. 科学通报, 2022, **67**(34): 4017-4028)
- [15] LI J, LIU F W, ZHANG T. Research progress of space mice flight payload[J]. *Chinese Journal of Space Science*, 2021, **41**(3): 445-456
- [16] JENNINGS R T, GARRIOTT O K, BOGOMOLOV V V, *et al*. The ISS flight of richard garriott: a template for medicine and science investigation on future spaceflight participant missions[J]. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 2010, **81**(2): 133-135
- [17] TOTH L A. The influence of the cage environment on rodent physiology and behavior: implications for reproducibility of pre-clinical rodent research[J]. *Experimental Neuro-*

- logy, 2015, **270**: 72-77
- [18] GARNER J P. Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes[J]. *Ilar Journal*, 2005, **46**(2): 106-117
 - [19] RONCA A E, MOYER E L, TALYANSKY Y, *et al.* Behavior of mice aboard the International Space Station[J]. *Scientific Reports*, 2019, **9**(1): 4717
 - [20] SAVAGE P D JR, JAHNS G C, DALTON B P, *et al.* The Rodent Research Animal Holding Facility as a Barrier to Environmental Contamination[C]//SAE International Inter-society Conference on Environmental Systems. California: SAE, 1989: 879-886
 - [21] DALTON P, GOULD M, GIRTEN B, *et al.* Preventing annoyance from odors in spaceflight: a method for evaluating the sensory impact of rodent housing[J]. *Journal Applied Physiology*, 2003, **95**(5): 2113-2121
 - [22] FAST T, GRINDELAND R, KRAFT L, *et al.* Rat maintenance in the research animal holding facility during the flight of space lab 3[J]. *The Physiologist*, 1985, **28**(S6): S187-S188
 - [23] RAINEY K. Rodent Research-1(SpaceX-4)[EB/OL]. [2023-07-23]. https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/news/rodent_research
 - [24] TOU J, GRINDELAND R, BARRETT J, *et al.* Evaluation of NASA Foodbars as a standard diet for use in Short-Term rodent space flight studies[J]. *Nutrition*, 2003, **19**(11/12): 947-954
 - [25] MOYER E L, DUMARS P M, SUN G S, *et al.* Evaluation of rodent spaceflight in the NASA animal enclosure module for an extended operational period (up to 35 days)[J]. *NPJ Microgravity*, 2016, **2**(1): 16002
 - [26] BONTING S L. Animal research facility for Space Station Freedom[J]. *Advances in Space Research*, 1992, **12**(1): 253-257
 - [27] CHOI S U, RONCA A, LEVESON-GOWER D, *et al.* Advances in rodent research missions on the International Space Station[C]//Proceedings of the ISS R and D Conference 2016. San Diego: NASA, 2016
 - [28] TASCHER G, BRIOCHE T, MAES P, *et al.* Proteome-wide adaptations of mouse skeletal muscles during a full month in space[J]. *Journal of Proteome Research*, 2017, **16**(7): 2623-2638
 - [29] MACAULAY T R, SIAMWALA J H, HARGENS A R, *et al.* Thirty days of spaceflight does not alter murine calvariae structure despite increased Sost expression[J]. *Bone Reports*, 2017, **7**: 57-62
 - [30] LEE S J, LEHAR A, MEIR J U, *et al.* Targeting myostatin/activin A protects against skeletal muscle and bone loss during spaceflight[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, **117**(38): 23942-23951
 - [31] COULOMBE J C, SARAZIN B A, MULLEN Z, *et al.* Microgravity-induced alterations of mouse bones are compartment- and site-specific and vary with age[J]. *Bone*, 2021, **151**: 116021
 - [32] MAO X W, SANDBERG L B, GRIDLEY D S, *et al.* Proteomic analysis of mouse brain subjected to spaceflight[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(1): 7
 - [33] CASERO D, GILL K, SRIDHARAN V, *et al.* Space-type radiation induces multimodal responses in the mouse gut microbiome and metabolome[J]. *Microbiome*, 2017, **5**(1): 105
 - [34] MAO X W, NISHIYAMA N C, BYRUM S D, *et al.* Space-flight induces oxidative damage to blood-brain barrier integrity in a mouse model[J]. *The FASEB Journal*, 2020, **34**(11): 15516-15530
 - [35] BAINS R S, WELLS S, SILLITO R R, *et al.* Assessing mouse behaviour throughout the light/dark cycle using automated in-cage analysis tools[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2018, **300**: 37-47
 - [36] SANDONÀ D, DESAPHY J F, CAMERINO G M, *et al.* Adaptation of mouse skeletal muscle to long-term microgravity in the MDS mission[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33232
 - [37] TAVELLA S, RUGGIU A, GIULIANI A, *et al.* Bone turnover in wild type and pleiotrophin-transgenic mice housed for three months in the International Space Station (ISS)[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33179
 - [38] VAN LOO P L P, VAN ZUTPHEN L F M, BAUMANS V, *et al.* Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice[J]. *Laboratory Animals*, 2003, **37**(4): 300-313
 - [39] NASA. Spaceflight-Induced Bone Loss Alters Failure Mode and Reduces Bending Strength in Murine Spinal Segments from Bion-M1[EB/OL]. (2022-02-15)[2023-04-03]. <https://osdr.nasa.gov/bio/repo/data/studies/OSD-471>
 - [40] MORITA H, OBATA K, ABE C, *et al.* Feasibility of a short-arm centrifuge for mouse hypergravity experiments[J]. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0133981
 - [41] SHIBA D, MIZUNO H, YUMOTO A, *et al.* Development of new experimental platform 'MARS'—Multiple Artificial-gravity Research System—to elucidate the impacts of micro/partial gravity on mice[J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 10837
 - [42] MORITA H, YAMAGUCHI A, SHIBA D, *et al.* Impact of a simulated gravity load for atmospheric reentry, 10 g for 2 min, on conscious mice[J]. *The Journal of Physiological Sciences*, 2017, **67**(4): 531-537
 - [43] ANDREEV-ANDRIEVSKIY A, POPOVA A, LLORET J C, *et al.* BION-M 1: first continuous blood pressure monitoring in mice during a 30-day spaceflight[J]. *Life Sciences in Space Research*, 2017, **13**: 19-26
 - [44] DSI. DSI PhysioTel PA-C10 Pressure Transmitter for

- Mice[EB/OL]. [2023-09-27]. <https://www.datasci.com/products/implantable-telemetry/small-animal-telemetry/pac10>
- [45] NAGARAJA M P, RISIN D. The current state of bone loss research: Data from spaceflight and microgravity simulators[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, **114**(5): 1001-1008
- [46] MAUPIN K A, CHILDRESS P, BRINKER A, *et al.* Skeletal adaptations in young male mice after 4 weeks aboard the International Space Station[J]. *NPJ Microgravity*, 2019, **5**(1): 21
- [47] MAURISSEN J P J, MARABLE B R, ANDRUS A K, *et al.* Factors affecting grip strength testing[J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2003, **25**(5): 543-553
- [48] Columbus Instruments. Grip Strength Meter[EB/OL]. [2023-09-27]. <https://www.colinst.com/products/grip-strength-meter>
- [49] TSE. PhenoMaster • TSE Systems - Together through Science and Engineering[EB/OL]. [2023-09-27]. <https://www.tse-systems.com/service/phenotype/>
- [50] CHANIOTAKIS I, SPYRLIADIS A, KATSIMPOULAS M, *et al.* The mouse and the rat in surgical research. The anesthetic approach[J]. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 2016, **67**(3): 147-162
- [51] KEEBLE E. Guide to veterinary care of small rodents[J]. *In Practice*, 2021, **43**(8): 424-437
- [52] CHOI S Y, SARAVIA-BUTLER A, SHIRAZI-FARD Y, *et al.* Validation of a new rodent experimental system to investigate consequences of long duration space habitation[J]. *Scientific Reports*, 2020, **10**(1): 2336
- [53] JONSCHER K R, ALFONSO-GARCIA A, SUHALIM J L, *et al.* Spaceflight activates lipotoxic pathways in mouse liver[J]. *PLoS One*, 2016, **11**(4): e0152877
- [54] BEHESHTI A, SHIRAZI-FARD Y, CHOI S, *et al.* Exploring the effects of spaceflight on mouse physiology using the open access NASA GeneLab platform[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2019(143): e58447
- [55] KWOK A, ROSAS S, BATEMAN T A, *et al.* Altered rodent gait characteristics after ~35 days in orbit aboard the International Space Station[J]. *Life Sciences in Space Research*, 2020, **24**: 9-17

作者简介



张晶晶 男, 1987年2月出生于湖北省荆州市, 现为中国地质大学(武汉)自动化学院副教授, 博士生导师, 主要研究方向为空间动物生命体征监测与行为智能分析.
Email: a2233k@163.com



刘方武 (通信作者) 男, 1984年4月出生于山东省临沂市, 现为中国科学院上海技术物理研究所副研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为空间生命科学实验技术开发、空间生命科学实验仪器研制等.
Email: liufangwu@mail.sitp.ac.cn