

小鼠福利受损模型的建立 及营养干预作用的研究

杨 斐 胡 樱, 许兰文

(复旦大学实验动物科学部, 上海200032)

[摘要] 目的 探索建立实验小鼠的福利受损模型, 并研究营养干预对模型小鼠福利的改善作用。方法 以反复制动模拟常规实验处置对小鼠的福利损害, 测定与福利相关的神经内分泌、免疫、生化、生长指标和饲料效价, 评价其在实验中消耗的生物学代价; 采用营养咬棒对模型小鼠同步干预, 测定相关指标。结果 制动小鼠体增重和饲料效价(FER)显著降低($P < 0.01$), 血清促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮(CORT)、肾上腺素(EPI)、去甲肾上腺素(NE)水平显著升高($P < 0.01$), 血清 β -内啡肽(β -EP)、白介素-2(IL-2)水平、脾脏指数、外周血白细胞总数(WBC)、脾脏T、B淋巴细胞增殖能力(SI_T , SI_B)显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型对照组比较, 营养咬棒组CORT、ACTH、EPI和NE显著降低($P < 0.05$), 脾脏指数、脾脏T、B淋巴细胞增殖能力、IL-2和WBC显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 制动小鼠再现了福利损害时动物的神经内分泌紊乱、免疫抑制和生长抑制状况, 可作为福利受损的动物模型, 营养干预有助于改善制动小鼠的神经内分泌紊乱和免疫抑制。

[关键词] 动物福利; 模型; 生物学代价; 营养干预; 小鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-8448(2008)02-0074-06

在实验动物福利技术研究领域, 近年来越来越多的证据表明常规的实验处置手段能够引起动物的应激反应, 如不予及时控制和干预, 往往导致额外的福利损害^[1], 不仅降低了实验动物的福利水平, 也在一定程度上干扰了科学研究。对此类福利损害的技术评价和干预, 正成为该领域的热点问题。然而, 由于缺乏合适的动物模型, 这方面的研究受到极大限制, 迄今为止尚未形成统一的评价指标和成熟的干预技术。本研究参考制动术(restraint)的方法, 采用小鼠建立实验性福利受损动物模型, 并根据动物在应激状态下的营养需求

特点和小鼠的行为习性对模型动物进行营养干预, 初步探索该模型在动物福利评价和干预技术研究中的意义, 以及采取营养干预改善小鼠福利的可行性。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级封闭群雄性KM小鼠192只, 20~22日龄, 购自复旦大学实验动物科学部, 并在该部SPF级动物实验设施内进行[SCXK(沪)2005-0002, SYXK(沪)2002-0011]。动物饲养于无色透明塑料小鼠盒内(尺寸为294 mm × 202 mm × 135 mm), 4只/笼, 采用12 h明/暗光制, 照明时间7:00~19:00。

1.2 主要仪器和试剂

上海精科MP502B型电子秤, 双圈牌MA110型电子分析天平, 德国Eos-bravo全自动生化分析仪, 日本pocH-100iv Diff全自动动物血液分析仪, 美国Bio-Tek Elx800 USA酶标仪, 美国SHELLAB CO₂培养箱。

[收稿日期] 2007-07-16

[基金项目] 上海市科技发展基金项目(064909011)

[作者简介] 杨 斐(1968-), 男, 副研究员, 硕士生导师, 从事实验动物学及比较医学的教学、科研和管理工作。

E-mail: yfdwbf@shmu.edu.cn

[通讯作者] 许兰文(1945-), 女, 教授, 硕士研究生导师。

E-mail: LWXU@Shmu.edu.cn

生化常规指标(血清总蛋白、血糖、总胆固醇)测定试剂由北京利德曼生化技术有限公司提供。激素和细胞因子(小鼠皮质酮、促肾上腺皮质激素、肾上腺素、去甲肾上腺素、 β -内啡肽、白细胞介素-2)测定试剂盒全部为血清型,系美国RapidBio公司产品,购自上海轩昊科技发展有限公司。ConA、LPS、MTT和RPMI-1640培养基为Sigma公司产品。

1.3 实验分组和处理

1.3.1 福利受损模型建立 研究观察期为9 d,分组和处理如下:对照组,48只,常规饲养,不作任何实验处理,实验组,48只,每日早(7 00-8 00)晚(18 00-19 00)各制动1 h,具体操作为:将小鼠水平装入自制塑料制动器,调节制动器活塞使之限制小鼠进退和掉头,但不产生压迫感,实验处理同时禁饮食。非处理时间的饲养管理操作和环境条件控制同对照组。

1.3.2 营养干预研究 观察期为14 d,分组和处理如下:模型对照组,48只,处理同1.3.1实验组。干预组,48只,处理同模型对照组,自处理之日起采用营养咬棒同步干预,具体操作为:白天2次处理间隔给予营养咬棒1支/笼,悬于笼盒内。咬棒按《实验动物 小鼠大鼠配合饲料》国家标准GB14924.3-2001用氨基酸和维生素配伍,并以琼脂赋形,每支长约8 cm,直径1.5 cm,重量约 12 ± 1 g。

1.4 测定项目和测定方法

1.4.1 生长和摄食测定 每次实验处理结束后立即测量体重,饲料消耗测定于每次实验组处理前后进行,分别统计4个时段(19 00~7 00; 7 00~8 00; 8 00~18:00; 18:00~19:00)的饲料消耗。按下列公式计算饲料效价:

$$\text{饲料效价(FER)} = \frac{\text{实验期间体增重/g}}{\text{实验期间饲料消耗总量/g}} \times 100\%$$

1.4.2 外周血白细胞(WBC)计数 动物经单侧尾静脉采血20 μ l,以15 g/L的EDTA-K₂溶液抗凝,2 h内置pochH-100iv Diff全自动动物血液分析仪上测定白细胞总数。

1.4.3 胸腺和脾脏指数测定 取外周血白细胞计数的动物,完成白细胞计数后当天摘取胸腺和脾脏,剔净结缔组织,称量湿重,按下列公式计算脾脏

指数(spleen index)和胸腺指数(thymus index):

$$\text{脏器指数} = \frac{\text{脏器重量/g}}{\text{体重/g}} \times 100\%$$

1.4.4 血液生化指标测定 动物经眼眶动静脉取血,室温静置30 min,4 离心(3000 r/min)15 min,分离血清,立即测定血清总蛋白(TP)、血糖(GLU)和总胆固醇(TCHO)含量,测定采用终点法,按仪器说明操作。用于测定激素和细胞因子的血清分装后-20 保存待测,测定采用ELISA法,按试剂盒说明书操作。

1.4.5 淋巴细胞增殖活性测定

1.4.5.1 脾细胞悬液制备 将动物脱颈处死,无菌取脾,剔净结缔组织,用无菌Hanks液漂洗数次,用玻璃注射器芯将脾脏碾碎,加入适量无菌Hanks液制成单细胞悬液,于200目不锈钢筛网上过滤3遍,收集滤液并用无菌Hanks液洗涤3次,除去红细胞,以RPMI-1640完全培养液调整细胞浓度为 2.5×10^6 个/ml备用。

1.4.5.2 淋巴细胞增殖反应 取制备好的脾细胞悬液按200 μ l/well接种于96孔细胞培养板,每份样品均设3个T细胞平行试验孔,3个B细胞平行试验孔,以及3个对照孔,每个试验孔加入预先平衡至室温的ConA工作液(T细胞)或LPS工作液(B细胞)10 μ l,对照组加入RPMI-1640完全培养液10 μ l,置培养箱中以5% CO₂,饱和湿度,37 培养72 h。另设不加细胞悬液的空白孔。

1.4.5.3 呈色与测定 于培养结束前4 h取出培养板,每孔加入MTT工作液20 μ l,按前述条件继续培养4 h后,终止培养,吸弃孔内上清200 μ l,每孔加入150 μ l DMSO,置酶标仪上震荡10 min,在490 nm处读取各孔吸光度值(A₄₉₀)并以空白孔调零。以刺激指数表示淋巴细胞增殖能力,按以下公式计算刺激指数:

$$\text{刺激指数(SI)} = \text{试验孔 } A_{490} \text{ 均值} / \text{对照孔 } A_{490} \text{ 均值}$$

1.5 统计学处理

实验结果用STATA软件进行统计,结果以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组均数比较采用t检验,检验水准, $\alpha=0.05$, $\alpha=0.01$ 。

2 结果

2.1 福利受损动物模型的建立

随着日龄增长,实验组和对照组体重差距逐

渐增大, 实验组的体增重(BW)和饲料效价(FER)均低于对照组, 差异极显著($P < 0.01$) (表1), 两组饲料消耗总量和日、夜摄食量构成无显著差异。

与对照组比较, 实验组CORT、ACTH、NE升高, β -EP下降, 差异极显著($P < 0.01$), EPI显著升高($P < 0.05$) (表2)。

实验组和对照组的血清TP、GLU、TCHO含量差异均无显著性($P > 0.05$) (表3)。

与对照组比较, 实验组脾脏指数(spleen index)降低且差异显著($P < 0.05$), IL-2和WBC降低且差异极显著($P < 0.01$)。测定小鼠脾脏细胞对丝裂原的反

应显示实验组T细胞刺激指数(SI_T)和B细胞刺激指数(SI_B)均低于对照组且差异极显著($P < 0.01$) (表4)。

2.2 营养咬棒干预研究

干预组和模型对照组实验期间体增重和饲料效价差异均无显著性($P > 0.05$) (表5)。

与模型对照组比较, 干预组CORT、ACTH、EPI和NE均降低且差异显著($P < 0.05$) (表6)。

与模型对照组比较, 干预组的T细胞刺激指数(SI_T)和IL-2升高且差异极显著($P < 0.01$), B细胞刺激指数(SI_B)、脾脏指数(spleen index)和WBC升高且差异显著($P < 0.05$) (表7)。

表1 小鼠实验期间体重变化和饲料效价

Table 1 Body weight and FER of control and restrained mice

组别Group	n	BW ₁ /g	BW ₂ /g	BW/g	FER/%
对照组Control	16	18.91 ± 1.51	38.72 ± 1.78	19.81 ± 1.94	22.46 ± 1.98
实验组 Subject	16	18.30 ± 1.2	32.53 ± 1.61**	14.22 ± 1.67**	15.22 ± 1.32**

注: BW₁: 实验初始体重; BW₂: 实验终末体重; BW = BW₂ - BW₁; 与对照组比较, **P < 0.01

Note: BW₁: Body weight at the beginning of experiment; BW₂: Body weight at the end of experiment, BW = BW₂ - BW₁ compared with control group, **P < 0.01

表2 小鼠血清中5种激素的水平

Table 2 Serum levels of 5 hormones from control and restrained mice

组别Group	n	CORT/nmol·L ⁻¹	ACTH/ng·L ⁻¹	β -EP/nmol·L ⁻¹	EPI/ng·L ⁻¹	NE/ μ g·L ⁻¹
对照组Control	16	39.65 ± 4.16	5.76 ± 0.59	6.13 ± 0.64	36.46 ± 4.25	16.83 ± 1.72
实验组 Subject	16	44.23 ± 4.57**	7.85 ± 1.31**	3.56 ± 0.39**	41.65 ± 6.77*	19.20 ± 1.83**

注: 与对照组比较, **P < 0.05, *P < 0.01

Note: Compared with control group, *P < 0.05, **P < 0.01

表3 血清TP、GLU、TCHO含量

Table 3 Serum levels of TP, GLU and TCHO from control and restrained mice

组别Group	n	TP/g·L ⁻¹	GLU/mmol·L ⁻¹	TCHO/mmol·L ⁻¹
对照组 Control	16	48.16 ± 3.16	7.05 ± 0.95	2.61 ± 0.30
实验组 Subject	16	48.91 ± 3.10	6.92 ± 1.01	2.55 ± 0.38

表4 免疫指标测定结果

Table 4 Indices of immune functioning from control and restrained mice

组别Group	n	spleen index/%	thymus index/%	IL-2/ng·L ⁻¹	WBC/10 ⁹ ·L ⁻¹	SI _T	SI _B
对照组 Control	16	0.255 ± 0.031	0.238 ± 0.030	20.79 ± 2.11	8.21 ± 0.70	1.52 ± 0.13	1.34 ± 0.20
实验组 Subject	16	0.228 ± 0.025*	0.245 ± 0.037	14.45 ± 1.59**	7.04 ± 0.76**	1.17 ± 0.10**	1.09 ± 0.11**

注: 与对照组比较, **P < 0.05, *P < 0.01

Note: Compared with control group, *P < 0.05, **P < 0.01

表 5 营养干预对制动小鼠体重和饲料效价的影响

Table 5 Effect of nutritional intervention on Body weight and FER in restrained mice

组别 Group	n	BW/g	BW/g	BW/g	FER/%
模型对照组 Model	16	18.95±1.42	32.30±1.85	13.35±1.84	15.03±1.41
干预组 Subject	16	18.76±0.93	32.57±2.20	13.81±2.09	15.33±1.15

表 6 营养干预对制动小鼠血清中5种激素含量的影响

Table 6 Effect of nutritional intervention on serum levels of 5 hormones in restrained mice

组别 Group	n	CORT/nmol·L ⁻¹	ACTH/ng·L ⁻¹	β-EP/ nmol·L ⁻¹	EPI/ng·L ⁻¹	NE/μg·L ⁻¹
模型对照组 Model	16	45.87±4.76	7.96±1.33	3.12±0.51	40.15±6.67	20.79±2.07
干预组 Subject	16	41.04±5.56 [*]	7.04±1.12 [*]	3.25±0.41	36.03±4.18 [*]	18.82±2.25 [*]

注: 与模型对照组比较, *P < 0.05

Note: Compared with model control group, *P < 0.05

表 7 营养干预对制动小鼠免疫指标的影响

Table 7 Effect of nutritional intervention on indices of immune functioning in restrained mice

组别 Group	n	SI _T	SI _B	spleen index/%	IL-2/ ng·L ⁻¹	WBC/10 ⁹ ·L ⁻¹
模型对照组 Model	16	1.17±0.13	1.12±0.10	0.230±0.021	14.68±1.51	5.97±0.86
干预组 Subject	16	1.30±0.12 ^{**}	1.20±0.09 [*]	0.251±0.017 [*]	17.71±1.92 ^{**}	6.83±1.04 [*]

注: 与模型对照组比较, *P < 0.05, **P < 0.01

Note: Compared with model control group, *P < 0.05, **P < 0.01

3 讨论

动物实验研究中, 实验处理给动物带来的生理痛苦和心理压力及其累积效应是公认的福利损害^[2], 确切评价此类损害程度是实验动物福利技术研究的重要基础。对多种动物的观察和研究表明, 动物的福利水平表现为动物在适应环境改变过程中付出的生物学代价, 评价这一生物学代价必须综合考虑动物外观、行为模式、生长发育水平、特异性和非特异性免疫力、神经内分泌反应以及器官组织病理等福利相关指标的变化^[3]。然而由于缺乏合适的动物模型, 目前对这些指标在动物福利技术评价中的意义及其应用的研究受到极大限制。因此, 本研究借鉴一种温和的身心刺激手段(制动术)模拟实验中动物的福利损害, 探索建立能够重现慢性福利损害累积效应的动物模型, 为实验动物福利技术评价和干预研究提供合适的对象。本研究参考目前探讨较多的动物福利相关指标, 以小鼠的体重变化反映其生长发育水平, 以饲料消耗反映其摄食行为, 以血清 TP、TCHO 和 GLU 反映其物质代谢状况, 以外周 WBC 总数、主要免疫器官指数、脾淋巴细胞增殖能力、血清 IL-2 水平反映其基础免疫状况,

以 5 种激素(神经递质)的血清含量反映其神经内分泌反应, 通过综合评价这些指标的变化来比较实验组和对照组的福利状况。

在对福利受损小鼠模型研究中发现, 实验组外周 CORT、ACTH、EPI 和 NE 水平升高而 β-EP 的水平下降, 提示实验处理改变了动物相关神经内分泌系统活性。外周 CORT 和 ACTH 水平升高是下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)反应的主要的生化表现。在动物福利评价中, HPA 反应程度是最经典的指标^[4]。实验表明制动刺激引起 HPA 轴的级联激活, 导致肾上腺皮质释放大量糖皮质激素(GC)并使其维持在较高水平。生物体面对环境挑战时提高 GC 的循环水平有助于帮助维持机体在不同环境中的稳态, 然而血液中持久的高水平 GC 会导致机体损伤, 也可能减弱机体对外界的适应力。EPI 和 NE 是交感-肾上腺-髓质系统(SNS)反应的主要外周产物, SNS 反应的生理意义是通过紧急动员确保重要器官的血液供应, 迅速提高机体防御能力, 然而制动导致 SNS 反应持续较长时间则可能导致多种组织的缺血坏死和功能紊乱^[5]。内阿片肽家族的重要成员 β-EP 已被证明和身心刺激存在某种联动^[6], 而且是神经-内分泌-免疫网络的共同物质基础以及作

用最强的内源性镇痛物质, 推测制动小鼠外周 β -EP水平下降在一定程度上引起网络调节的紊乱以及可能改变动物的痛阈, 从而间接影响动物福利水平。和对照组比较, 实验组血清中这5种激素(神经递质)的水平有明显波动提示制动使动物的稳态受到破坏, 内环境失调, 罹患适应性疾病的风险大大增高。

免疫抑制是公认的实验动物福利问题^[7]。研究也观察到实验组外周WBC总数、外周IL-2含量、脾脏指数和淋巴细胞增殖力均明显低于对照组。WBC总数和脾脏指数是评价实验动物免疫系统功能的常用指标, 两者降低提示机体免疫细胞总数减少并可能发生免疫器官萎缩, 淋巴细胞增殖活性下降反映机体对特异性抗原的应答能力降低, IL-2是体内作用最强的T细胞生长因子, 由T细胞系分泌, 其产量下降在一定程度上反映了机体的免疫抑制状况。综合以上结果可知实验组出现了免疫抑制, 这表明可以通过制动模拟实验动物福利损害时的免疫抑制状况。

此外, 实验动物福利受到损害时, 往往引起生长发育迟缓。研究中, 实验组体重增长明显低于对照组。由于两组饲料消耗总量差异不显著而饲料效价差异显著, 可知制动没有明显抑制动物的采食行为, 但是降低了饲料作用于动物生长的效率。

因此, 制动小鼠再现了福利受到损害时神经内分泌、免疫和生长方面的非特异性变化。制动术(restraint)是研究身心压力对机体影响的常用方法^[8]。运用制动术模拟动物在实验中的福利损害, 主要是依据其刺激方式、刺激性质和所引发的反应。多数实验都需要对动物进行保定, 保定的过程和制动极其相似。许多“无害”的常规实验操作往往同时造成动物生理和心理上的不适, 制动术也属于身心刺激。在福利受损的实验动物中, 常常观察到生长、行为、内分泌和免疫的一系列非特异性反应, 制动也使机体出现类似变化^[9, 10]。而且, 制动过程本身也是一种轻微的福利损害, 就实验小鼠而言, 制动至少限制了其活动自由, 剥夺了其舒展肢体、选择自然姿势的权利, 妨碍其梳理、清洁等个体修饰行为的表达以及社群交流, 并引起恐惧、憎恶的情绪^[11]。因此, 制动小鼠的各项指标的变化反映了一般动物实验过程对动物机体稳态的累积损害效应。本研究结果进一步表明, 采用该方法建立的福利受损模型能够在神经内分泌、免疫和生

长发育方面较好地模拟实验中动物的福利损害情况, 适合作为相关的福利评价和干预研究的动物模型。

在模型动物的基础上, 本研究观察了采用特制的营养咬棒实施营养干预的效果。根据对模型和常态动物的比较分析, 研究确立用HPA反应、SNS反应和 β -EP外周水平综合评价实验动物的神经内分泌反应, 用外周白细胞总数、脾脏指数、外周IL-2水平以及脾脏淋巴细胞增殖能力评价其基础免疫状况, 用体增重和饲料效价评价其生长。结果显示, 干预显著降低了实验性福利损害模型小鼠的HPA反应和SNS反应相关激素水平, 并使小鼠各项免疫指标均有不同程度恢复, 提示营养咬棒的干预能够促进小鼠神经内分泌系统功能恢复正常, 缓解小鼠的免疫抑制, 对于改善其内环境的失调、预防和纠正各组织器官功能紊乱具有显著作用。

许多研究发现, 机体在应对劣性刺激的时候会提高对某些营养素尤其是一些氨基酸和维生素类的需求, 及时补充不仅有利于机体物质代谢平衡和恢复体力, 并可帮助动物保持正常精神状态, 降低对疾病的易感性^[12-14]。本研究发现, 通过营养咬棒提供这些营养素有助于降低小鼠在对抗制动过程中消耗的生物学代价, 改善其福利状况。鉴于实验动物的营养摄入必须兼顾动物正常生长和实验应用的要求, 营养干预的思路是通过弥补所缺乏的营养素维持机体的正常状态, 咬棒配伍所用营养素均属于小鼠常规饲料的营养成分, 且参考《实验动物 小鼠大鼠配合饲料》国家标准GB 14924.3-2001和常用实验剂量设计, 因此在维护动物健康和保障实验应用两方面均符合安全性原则。此外, 研究亦观察到小鼠对咬棒表现出频繁的探究和把玩行为, 提示营养咬棒的形状和给予方式符合小鼠的行为习性和天性。行为调节也是动物福利干预的重要方式, 推测营养咬棒的干预作用还可能与行为调节有关, 相关机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. Laboratory routines cause animal stress[J]. *Lab Anim Sci*, 2004, 43(6): 42-51.
- [2] Van Loo PL, Van der Meer E, Kruiwagen CL, et al. Long-term effects of husbandry procedures on stressed related parameters in male mice of two strains [J]. *Laboratory Animals*, 2004, 38: 169-177.
- [3] Baumans V. Methods for evaluation of laboratory animal well-

- bing[J]. *Altern Lab Anim*, 2004, 32(s1): 161-162.
- [4] Moberg GP., Mench JA. 动物应激生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 28-41.
- [5] 陈主初, 王树人. 病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 184-185.
- [6] 尹建春, 颜 军. 不同应激方式对大鼠体内 β -内啡肽的影响[J]. *中国公共卫生*, 2004, 20(9): 1146.
- [7] Sheridan F, Dobbs C, Jung J, et al. Stress-induced neuroendocrine modulation of viral pathogenesis and immunity[J]. *Ann NY Acad Sci*, 1998, 840: 803-808.
- [8] 刘克嘉, 邬勤娥. 应激与应激性疾病[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 54-56.
- [9] Iwakabe K, Shimada M, Ohta A, et al. The restraint stress drives a shift in th1/th2 balance toward th2-dominant immunity in mice[J]. *Immunology Letters*, 1998, 62: 39-43.
- [10] Tarcic N, Ovadia H, Weiss DW, et al. Restraint stress-induced thymic involution and cell apoptosis are dependent on endogenous glucocorticoids[J]. *Journal of Neuroimmunology*, 1998, 82: 40-46.
- [11] McCormick CM, Robarts D, Kopeikina K, et al. Long-lasting, sex-and age-specific effects of social stressors on corticosterone responses to restraint and on locomotor responses to psychostimulants in rats[J]. *Hormones and Behavior*, 2005, 48: 64-74.
- [12] 吴德峰, 胡美华, 黄建晖, 等. 抗热应激中草药添加剂对奶牛血液生化指标和小鼠热应激模型 ACTH 指标的影响[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2005, 34(2): 255-259.
- [13] Cook R. The relationship between diet and psychological health[J]. *Person Individ Diff*, 1993, 14(3): 397-403.
- [14] 张世华, 郑小波, 陈春林. 复合抗应激制剂对动物机体免疫功能的影响[J]. *贵州畜牧兽医*, 2001, 25(4): 7-8.

Establishment of Welfare Impaired Mice Model and Effect of Nutritional Intervention

YANG Fei, HU Ying, XU Lan-wen

(Department of Laboratory Animal Science, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] Objective To establish an the welfare impaired mice model and investigate the effect of nutritional intervention. **Methods** Mice undergoing poor welfare due to repeated restraint (simulate the procedures of laboratory routine) were used to measure the biological value when they were adapting to this procedure by testing welfare related indices (neuroendocrine parameters, immune parameters, biochemical parameters, body weight and food consumption), and the effect of nutrient agar stick was assessed by using this model. **Result** Restraint mice showed higher basal serum CORT, ACTH, EPI, NE and lower basal serum β -EP, IL-2 as well as lower body weight gain and FER compared with control group. Meanwhile, WBC, spleen index and splenocyte proliferation of restraint ones decreased significantly. Compared with model group, nutrient stick group showed lower levels of CORT, ACTH, EPI, NE, higher levels of β -EP, IL-2, WBC, spleen index and splenocytes proliferation. All the difference was significant. **Conclusion** The study established successfully an animal model that display the neuroendocrine disorder, immune suppression and growth suppression due to impaired welfare, and suggested that nutritional intervention do benefit to improve the neuroendocrine disorder and immune suppression.

[Key words] Animal welfare; Model; Biological value; Nutritional intervention; Mice