维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)04-0488-02

二硝基苯磺酸诱导的鼠溃疡性结肠炎动物模型

朱代华,张兴明,郭 丹

(重庆医科大学第二临床学院普外科,重庆 400010)

【摘 要】目的:建立一种由 2,4-二硝基苯磺酸(DNBS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)动物模型。方法:用 18%的 DNBS 乙醇溶液 0.25ml 灌肠,在 Wistar 大鼠上建立 UC 模型。结果:DNBS/乙醇灌肠后,实验鼠出现血性腹泻,持续 2~3 天,而粘液性腹泻持续时间长达 21 天。结肠病理表现为充血、水肿、局限于粘膜内的溃疡、杯状细胞排空、隐窝脓肿等。结论:DNBS/乙醇诱导的鼠 UC 模型类似于人 UC,具有操作简单、重复性好、毒性小、价廉的优点。

【关键词】溃疡性结肠炎;疾病模型;动物;鼠

【中国图书分类法分类号】R656.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2003-09-16

A DNBS-induced model of ulcerative colitis in rats

ZHU Daihua, et al

(*Department of General Surgery, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To build the model of ulcerative colitis(UC) induced by 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid (DNBS). *Methods*: The experimental UC was induced in Wistar rats by enema with 0.25ml of 18% DNBS dissolved in ethanol. *Results*: DNBS caused severe diarrhea with colorectal bleeding for 2~3 days and mucous diarrhea for 21 days. The pathologic changes of the colon included hyperemia, edema, ulcerations localized in colonic mucosa, depletion of goblet cells and formation of crypt abscess. *Conclusion*: The DNBS-induced model of UC in rats is similar to human UC, and has such advantages as easy replication, low toxicity and cheapness.

【Key words】Ulcerative colitis; Disease model; Animal; Rat

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是病因不明的慢性非特异性结肠炎症,在我国的发病率逐渐上升,因此加强对 UC 的研究具有重要的现实意义。对本病的研究,首先要有一个理想的动物模型,但遗憾的是,目前尚无一种 UC 模型是理想的。本实验用 2,4-二硝基苯磺酸(2,4-dinitrobenzenesulfonic acid, DNBS)采诱导鼠的结肠炎症,探讨其与人 UC 的相似程度。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 Wistar 大鼠:体重 200~250g,重庆医科大学实验动物中心提供。DNBS:购自美国 Acros Organics 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立

将大鼠禁食 48h 后,分成生理盐水组、乙醇组、DNBS/乙醇组。用乙醚麻醉鼠后,经鼠肛门插入直径 1mm 的硅胶管 8cm,达结肠脾曲,分别用生理盐水 0.25ml,50%乙醇 0.25ml 和 18% DNBS 乙醇溶液 0.25ml(0.25ml 50%乙醇中含 DNBS 45mg)灌肠。每日观察大鼠的腹泻情况(分为正常、肛周湿润、中度、粪便污染下腹部 4 个等级,分别记 0、1、2、3 分)。分别在第 1、3、7、14、21 天从每一实验组中随机处死 6 鼠只作病理观察。

1.2.2 病理学观察

用乙醚麻醉大鼠后,切除脾曲以下结、直肠,用 10 倍放大镜观察粘膜大体形态。选取病变最明显处的肠组织,用 HE 染色后在光镜下观察病理改变。病理学观察结果按 Sasaki 制定的评分标准评分[1]。

1.2.3 统计方法

腹泻和大体形态评分的统计采用秩和检验(Kruskal-Wallis)。组织病理学评分的统计为方差分析(AVOVA)、q 检验(Post Hoc Tests)和 t 检验。

2 结 果

作者介绍:朱代华(1966-),男,副主任医师,主要研究方向:肛肠疾病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.1 实验鼠的腹泻情况

生理盐水组的实验鼠无腹泻。乙醇组的实验鼠在第 1 天出现血性腹泻,此后为粘液性腹泻,8 天后腹泻停止。DNBS/乙醇组的实验鼠在最初 2～3 天均为血性腹泻,且粘液性腹泻持续至第 21 天实验结束时。腹泻情况如表 1 所示。

2.2 组织病理学观察结果

大体及石蜡切片的观察显示(图 1、2,表 2、3),生理盐水灌肠仅引起结肠轻微的充血。乙醇灌肠后,第 1 天即可引起结直肠的充血、水肿、局限于粘膜层的点状糜烂和多发针尖样溃疡,伴粘膜及粘膜下中性粒细胞、嗜酸细胞、淋巴细胞浸润,溃疡边缘隐窝的杯状细胞排空。第 14 天时溃疡已愈合。DNBS/乙醇灌肠后,第 1 天即可引起结直肠多发的、大小不等的溃疡,最大直径达 0.5cm,多数局限在粘膜层内,部分深达粘膜下层,表现为粘膜剥脱,伴肠壁全层嗜酸细胞、中性粒细胞、淋巴细胞为主的炎症细胞浸润,未坏死粘膜出现弥漫性杯状细胞排空,灶性隐窝脓肿。14 天时出现肉芽组织,病变处增生的隐窝扩张、扭曲。21 天时可见瘢痕形成,但肠壁仍有水肿。



图 1 鼠结肠,DNBS 灌肠后 3 天。粘膜脱落,溃疡达粘膜肌层,大量炎症细胞浸润,少许出血 SP4×10



图 2 鼠结肠,DNBS 灌肠后 7 天。可见隐窝脓肿 SP20×10

表 1 实验鼠腹泻情况表

组别/时间	第 1d(只)				第 3d(只)				第 7d(只)				第 14d(只)				第 21d(只)			
/等级(分)	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
生理盐水	30*				24*				18*				12				6			
乙醇	9	15	6*		11	9	4*		15	3*			6	6			6			
DNBS/乙醇			10	20*		5	19*			3	15*			3	9*			6		

*$P<0.01$

表 2 实验鼠病变结肠大体形态评分

组别/时间	第 1d(只)					第 3d(只)					第 7d(只)					第 14d(只)					第 21d(只)				
/等级(分)	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
生理盐水	4	2*				6*					6*					6					6				
乙醇		2	4*				3	3*					6*					6*			6				
DNBS/乙醇			2	2	2*					6*				2	4*				2	4*			6		

*$P<0.01$

表 3 实验鼠粘膜损伤组织病理学评分结果($\bar{x}\pm s$)

组别/时间	第 1d	第 3d	第 7d	第 14d	第 21d
生理盐水	1.33±0.52*	0.67±0.52*	0	0	0
乙醇	13.67±2.25*	11.33±1.51*	7.67±0.82*	5.17±0.75*	2.12±0.48*
DNBS/乙醇	18.33±0.81*	14.83±0.75*	13.33±2.50*	12.83±1.17*	8.33±1.17

*$P<0.001$

3 讨 论

理想的 UC 动物模型,既要能产生类似于人 UC 的症状、病理改变,又要具备迁延不愈(下转第 490 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

然而与开胸手术和胸腔镜手术不同,尽管加上人工胸水的影响,由于未通气的胸膜腔保持完整密闭,未受到外界大气压的直接影响,同时由于机体通过缺氧性肺血管收缩反应的代偿机制减少未通气侧肺的血流量,使患者在治疗能维持正常的的 PaO_2 和血流动力学的稳定[5]。在治疗过程中,我们观察到在单肺通气后 60min PaO_2 与双肺通气相比有显著下降,而至 120min 时 PaO_2 尽管有一定程度的上升,但与双肺通气时比较仍有显著性意义,但单肺通气的任何一个时点的 PaO_2 均高于基础值,SaO_2 保持在 99%,PcO_2 单肺通气的各时点虽均高于基础值和双肺通气,但没有显著性的意义,最高值是在 OiV30 时 PcO_2 达 37.8 ± 5.3,也均在允许的范围内,说明单肺通气、人工胸水不足以影响肺的气体交换,对患者时安全的,这与以前相关的动物实验和临床研究的结果一致[6]。由于病例数较少且患者肺功能良好,单肺通气期间未发生低氧血症和二氧化碳蓄积,但插管后应认真观察单肺通气后 PO_2 和 SPO_2 及呼气末 CO_2 的变化,在确保双腔管位置良好的前提下,一旦 SPO_2 下降至 90%,并有继续下降趋势时应恢复双腔通气。

本研究观察的其它参数:MAP、HR、PcO_2、SaO_2 和 PH 值在 HIFU 治疗过程始终保持稳定。临床体检和胸部 X 线摄片显示注入的胸膜腔的生理盐水在治疗后短期内吸收,双肺未出现相关的并发症。

综上所述,表明在全麻下单肺通气、人工胸水的方法用于 HIFU 治疗肝膈顶部肿瘤是安全、可靠、有效的。

参 考 文 献

[1] 谢晓燕,吕明德,殷晓煜,等.超声引导经皮射频消融治疗肝癌的研究[J].中华外科杂志,2003;41:23-26.

[2] 张智坚,吴孟超,陈 汉,等.经皮肝穿刺射频热凝与肝动脉化疗栓塞联合治疗肝细胞癌[J].中华外科杂志,2002;40:826-829.

[3] Curley SA, Izzo F, Delrio P, et al. Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients[J]. Ann Surg, 1992;230:1-8.

[4] 肖毓研,谭树家,谭树坚.单肺通气麻醉安全时限的探讨[J].中华麻醉学杂志,1987;7:129-130.

[5] Scherer R. Van Aken H, Lawin P. Hemo dynamic and respiratory changes in operation of the esophagus by unilateral ventilation[J]. Chirurg, 1984;55:665-669.

[6] 初向阳,孙玉鹗.单肺通气、胸腔镜手术对幼猪血流动力学及血气的影响[J].中华胸心血管外科杂志,2001;3:162-164.

(上接第 487 页)

的特点,重复性好,操作简单。UC 动物模型的制作方法很多,但尚未有一种是达到上述要求的。目前较为流行的 UC 动物模型是三硝基苯磺酸(trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)/乙醇模型[2],但 TNBS 是易爆有毒物质,而且产生的肠炎更类似于人 Crohn's 病[3,4]。国外最近报道了 DNBS/乙醇模型,与 TNBS/乙醇模型相比,具有更类似于人 UC,操作安全,毒性小,肠炎易受制模药物剂量控制的优点[4]。国内目前尚无此种制模方法的报道。

DNBS 是一种半抗原物质,DNBS/乙醇模型的机理是:在乙醇灼伤结肠粘膜后,DNBS 与组织蛋白的赖氨酸 ε-氨基团结合[4],致敏机体激发免疫反应,使结肠粘膜发生炎症反应。本实验结果表明,DNBS/乙醇灌肠引起鼠血性腹泻;大体标本为结直肠连续分布的炎症,表现为充血、水肿、糜烂和多发圆形溃疡;镜下表现为局限于粘膜的溃疡,伴中性粒细胞、嗜酸细胞、淋巴细胞为主的炎症细胞浸润,肠壁充血、水肿、出血,杯状细胞排空,隐窝脓肿,淋巴滤泡增生,后期出现隐窝增生、扩张、扭曲,肉芽组织和瘢痕形成。这些都类似人 UC 的表现。本模型有约 1 周的急性期,2 周的慢性炎症期。

本模型具有以下的优点:(1)模型制作简单,重复性好;(2)毒性小,动物易存活;(3)临床与病理表现与人 UC 的相似度高;(4)因是免疫学模型,可用于 UC 免疫学方面的研究。

参 考 文 献

[1] Sasaki S, Hirata I, Maemura K, et al. Prostaglandin E_2 inhibits lesion formation in dextran sodium sulphate-induced colitis in rats and reduces the levels of mucosal inflammatory cytokines[J]. Scand J Immunol, 2000;51(1):23-28.

[2] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon[J]. Gastroenterology, 1989;96(3):795-803.

[3] 朱 峰,钱家鸣,潘国宗.细胞免疫反应性炎症性肠病动物模型的建立[J].中国医学科学院学报,1998;20(4):271-278.

[4] Hawkins JV, Emmel EL, Feuer JJ, et al. Protease Activity in a hapten-induced model of ulcerative colitis in rats[J]. Dig Dis Sci, 1997;42(9):1969-1980.