DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000739

# C57BL/6J小鼠急性足肿胀炎症模型的建立及指标评价

孙 韬[1],王春霞[1],李东海[2],赵 谊[1],曾婷婷[1]
（兰州市第一人民医院 1. 检验科;2. 病理科,兰州 730050）

【摘 要】**目的**:建立 C57BL/6J 小鼠急性足肿胀炎症模型进行模型指标评价。**方法**:将 24 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组,即正常组、模型组和吲哚美辛对照组。采用角叉菜胶法诱导模型组和吲哚美辛对照组小鼠发病建立急性足肿胀炎症模型。正常组小鼠不做任何处理。各组分别于注射角叉菜胶后 1、2、3、4、5、6 h 测量足趾厚度,随后处死小鼠取血清标本进行炎性因子检测,取足部组织进行病理学观察。**结果**:致炎 1 h 后模型组小鼠足部开始肿胀,2 h 后肿胀明显,5 h 后达到肿胀高峰。与模型组相比,吲哚美辛对照组则在 2 h 明显抑制肿胀($P$=0.004),抑制作用持续到 6 h($P$=0.000)。正常组小鼠无明显变化;模型组较吲哚美辛对照组和正常组小鼠血清肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α,TNF-α)和白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)都明显升高($P$=0.000);模型组小鼠足趾病理切片见大量中性粒细胞浸润,吲哚美辛对照组小鼠见少量中性粒细胞浸润,正常组小鼠足部病理未见明显异常。**结论**:C57BL/6J 小鼠急性足肿胀炎症模型方法可靠、可重复性较高以及阳性对照药物吲哚美辛抗足肿胀效果明显,可适用于抗炎药物的常规筛选及评价。足趾厚度改变、血清炎性因子 TNF-α 和 IL-1β 升高以及炎症部位病理改变是评价急性足肿胀炎症模型的重要指标。

【关键词】炎症模型;C57BL/6J 小鼠;足肿胀
【中图分类号】R965.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-04-16

# Establishment and evaluation of acute paw edema inflammation model of C57BL/6J mice

*Sun Tao, Wang Chunxia, Li Donghai, Zhao Yi, Zeng Tingting*
*(1. Department of Clinical Laboratory, 2. Department of Pathology, The First People's Hospital of Lanzhou)*

【Abstract】***Objective***: To establish and evaluate acute paw edema inflammation model of C57BL/6J mice. ***Methods***: Twenty-four cases of C57BL/6J male mice were randomly divided into 3 groups. The normal group did not receive any treatment; the other two groups were induced to acute inflammation model by carrageenan. The thickness of the paw was measured respectively at 1, 2, 3, 4, 5, 6 hours after the injection of carrageenan. Then the mice were executed, the serum samples were taken

**作者介绍**:孙 韬,Email:stsyd17d@163.com,
研究方向:生物化学与分子生物学。
**通信作者**:王春霞,Email:wangchxsh@163.com。
**基金项目**:兰州市卫生科技发展计划资助项目(编号:LZWSKY2014-1-05)。
**优先出版**:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150805.1550.016.html (2015-08-05)

155(8):3146-3159.

[3] Chang HM, Cheng JC, Taylor E, et al. Oocyte-derived BMP15 but not GDF9 down-regulates connexin43 expression and decreases gap junction intercellular communication activity in immortalized human granulosa cells[J]. Mol Hum Reprod, 2014, 20(5): 373-383.

[4] Vasconcelos GL, Saraiva MV, Costa JJ, et al. Effects of growth differentiation factor-9 and FSH on in vitro development, viability and mRNA expression in bovine preantral follicles[J]. Reprod Fertil Dev, 2013, 25(8): 1194-1203.

[5] Nonis D, McTavish KJ, Shimasaki S. Essential but differential role of FOXL2wt and FOXL2C134W in GDF-9 stimulation of follistatin transcription in cooperation with Smad3 in the human granulosa cell line COV434[J]. Mol Cell Endocrinol, 2013, 372(1): 42-48.

[6] Salilew-Wondim D, Ahmad I, Gebremedhn S, et al. The expression pattern of microRNAs in granulosa cells of subordinate and dominant follicles during the early luteal phase of the bovine estrous cycle[J]. PLoS One, 2014(9): e106795.

[7] Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan[J]. BMC Med, 2010, 8(6): 41-45.

[8] Trombly DJ, Woodruff TK, Mayo KE. Roles for transforming growth factor beta superfamily proteins in early folliculogenesis[J]. Semin Reprod Med, 2009, 27(1): 14-23.

[9] Myllymaa S, Pasternack A, Mottershead DG, et al. Inhibition of oocyte growth factors in vivo modulates ovarian folliculogenesis in neonatal and immature mice[J]. Reproduction, 2010, 139(3): 587-598.

（责任编辑:冉明会）

for the detection of inflammatory cytokines, and the foot tissue was taken for pathology detection. ***Results***: At 1 h after the inflammation, the paws of mice in model group began to swell. The edema became significant at 2 h after the inflammation. At 5 h after the inflammation, the edema reached the peak. The edema was significantly inhibited in indomathacin group at 2 h after the inflammation, and the inhibition continued till 6 h after the inflammation. The mice in normal group had no significant change. Compared with those in indomathacin group and normal group, the serum TNF-α and IL-1β of mice in normal group were significantly elevated. The pathological sections of paws of mice in model group showed massive infiltration of neutrophils. Little infiltration of neutrophils was seen in mice in indomathacin group. The paw pathology of mice in normal group showed no obvious abnormality. ***Conclusion***: The acute paw edema and inflammation model of C57BL/6J mice is reliable and highly repetitive. The positive controlling drug indomathacin has obvious anti-edema effect. The model is applicable to the routine screening and evaluation of anti-inflammatory drugs. The changes in paw edema, the increase in serum cytokines TNF-α and IL-1β, and the pathological changes in sites of inflammation are very important indicators to evaluate the acute inflammation model.

【Key words】inflammation model; C57BL/6J mice; paw edema

炎症是指具有血管组织系统的活体组织对外界有害刺激引起的复杂防御反应，是机体内重要的一类病理过程。通常炎症的表现形式为红、肿、热、痛以及功能障碍。炎症根据发生的持续时间不同可分为急性炎症和慢性炎症。其中急性炎症的病理过程主要是局部出现血管扩张、血浆及炎性细胞的渗出等。慢性炎症的病理过程主要表现为组织增生。

角叉菜胶诱导产生足肿胀模型是目前评价抗炎药物活性最为常用的急性炎症模型。角叉菜胶诱导产生的足肿胀炎症过程可分为两期：早期阶段炎症局部组织释放组胺、5-羟色胺、缓激肽以及少量的前列腺素；后期阶段出现中性粒细胞浸润和大量前列腺素产生[1]。中性粒细胞可释放肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)等炎性因子，参与机体防御反应，TNF-α、IL-1β 本身不仅会对机体细胞产生损伤作用，还会诱导其他细胞产生另外的炎性因子，造成更为严重的炎症反应[2]。本实验采用角叉菜胶诱导的 C57BL/6J 小鼠急性足肿胀炎症模型[3]，以吲哚美辛为阳性对照药物，并且对多项评价指标进行检测，以期为抗炎药物的筛选和活性评价提供稳定可靠的方法支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只，体质量(20 ± 2) g，由兰州大学实验动物中心提供[动物生产许可证：SCXK(甘) 2009-0004 号]，动物批号：兰大动检(06)第 004 号。实验小鼠置于环境温度为(22 ± 2) ℃、相对湿度为(50 ± 5)%的动物实验室适应性饲养 1 周后开始实验，动物每笼 4 只饲养，可自由摄食饮水，自然光线照明，室内通风良好(动物使用许可证：SYXK2009-0005)。

### 1.2 药物和试剂

角叉菜胶购于美国 Sigma 公司(批号：127H1227)；吲哚美辛购于 R&D 公司(批号：2001865)；小鼠 TNF-α、IL-1β ELISA 试剂盒购于江苏晶美生物科技有限公司(批号：201502)。

### 1.3 C57BL/6J 小鼠足肿胀炎症模型的建立

24 只小鼠随机分为 3 组，即模型组、吲哚美辛对照组、正常组，每组 8 只。吲哚美辛对照组小鼠注射角叉菜胶前 1 h 给予灌胃吲哚美辛 10 mg/kg，随后将 25 μl 1%(W/V)角叉菜胶分别注射于模型组和吲哚美辛对照组小鼠左足趾皮下组织，作为阴性对照给予 25 μl 0.9%生理盐水于右足趾皮下组织；正常组小鼠不做任何处理。

### 1.4 检测指标

1.4.1 足趾肿胀厚度 分别于注射角叉菜胶或生理盐水后 1、2、3、4、5、6 h 测量小鼠左、右后足趾厚度。肿胀厚度(mm)=左足趾厚度(mm)-右足趾厚度(mm)。

1.4.2 血清 TNF-α、IL-1β 检测 致炎 6 h 后摘眼球取血 1 ml 左右，室温放置 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min，利用ELISA 试剂盒检测血清 TNF-α 和 IL-1β 含量水平。

1.4.3 小鼠足趾组织病理学观察 致炎 6 h 后处死小鼠，取左后足趾 10%甲醛固定 HE 染色，观察组织病理改变。

### 1.5 统计学分析

所有资料采用 GraphPad Prism 6.0 统计分析软件进行处理，所得数值均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，多样本均数比较用单因素方差分析(Tukey's post-test)，两两比较采用双因素方差分析(Sidak's post-test)。检验水准 $\alpha$=0.05。

## 2 结 果

### 2.1 C57BL/6J 小鼠足肿胀变化情况

注射角叉菜胶 1 h 后，模型组小鼠左后足开始出现红肿

等急性炎症反应，5 h 达到肿胀高峰，炎症症状持续至 6 h；吲哚美辛对照组小鼠在致炎 2 h 后开始抑制肿胀（$P$=0.004），3 h 后显著抑制角叉菜胶诱导的小鼠足肿胀并持续到 6 h（$P$=0.000）（表 1）；从肉眼观察，模型组小鼠左后足趾在不同时间点肿胀均高于吲哚美辛对照组（图 1）。

2.2 血清 TNF-α 和 IL-1β 检测

致炎 6 h 后摘眼球取血 1 ml 左右，室温放置 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min，取血清检测 TNF-α 和 IL-1β 含量水平。结果显示正常组、模型组、吲哚美辛对照组小鼠血清 TNF-α 含量分别为 151.40 ± 29.38、980.10 ± 103.30、(307.50 ± 65.710) ng/ml。方差分析 3 组 TNF-α 含量水平的差异具有统计学意义（$F$=27.55，$P$=0.000）。两两比较结果显示模型组的血清 TNF-α 含量水平较正常组明显增高（$P$=0.000），吲哚美辛对照组与正常组之间没有明显差异（$P$=0.175）；吲哚美辛对照组的血清 TNF-α 含量水平较模型组明显减低（$P$=0.005）（图 2A）。

正常组、模型组、吲哚美辛对照组小鼠血清 IL-1β 含量分别为 129.90 ± 19.38、572.90 ± 67.28、(221.20 ± 39.99) ng/ml。方差分析 3 组 IL-1β 含量水平的差异具有统计学意义（$F$=26.30，$P$=0.000）。两两比较结果显示模型组的血清 IL-1β 含量水平较正常组明显增高（$P$=0.000），吲哚美辛对照组与正常组之间没有明显差异（$P$=0.189）；吲哚美辛对照组的血清IL-1β含量水平较模型组明显减低（$P$=0.008）（图 2B）。

2.3 小鼠足趾组织病理学改变

致炎 6 h 后处死小鼠，分别取模型组、吲哚美辛对照组以及正常组小鼠左后足组织进行 HE 染色切片，结果显示模型组小鼠足趾皮下组织以及肌间有大量中性粒细胞浸润（红色箭头所指区域），表现为急性化脓性炎症（图 3A），图 3A 中黄色方框区域局部放大可见大量中性粒细胞（图 3B）；吲哚美辛对照组小鼠足趾皮下组织及肌间的中性粒细胞明显减少（图 3C）；正常组小鼠足趾组织无明显炎性细胞浸润（图 3D）。

**表 1 注射角叉菜胶后不同时间点 C57BL/6J 小鼠足肿胀反应（$\bar{x} \pm s$，$n$=8，mm）**

Tab.1 Inflammatory response post-carrageenan injection in C57BL/6J mice at different time points（$\bar{x} \pm s$，$n$=8，mm）

| 分组 | 1 h | 2 h | 3 h | 4 h | 5 h | 6 h |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 模型组 | 0.370 ± 0.096 | 0.593 ± 0.122 | 0.748 ± 0.113 | 0.903 ± 0.128 | 1.063 ± 0.144 | 0.985 ± 0.147 |
| 吲哚美辛对照组 | 0.327 ± 0.067 | 0.415 ± 0.099[a] | 0.525 ± 0.112[b] | 0.468 ± 0.087[b] | 0.512 ± 0.060[b] | 0.558 ± 0.083[b] |

注：阳性对照吲哚美辛抗炎作用的主效应（$F$=74.42，$P$=0.000），致炎时间的主效应（$F$=154.2，$P$=0.000），交互作用（$F$=16.63，$P$=0.000）。a，与模型组相比，$P$=0.004；b，与模型组相比，$P$=0.000

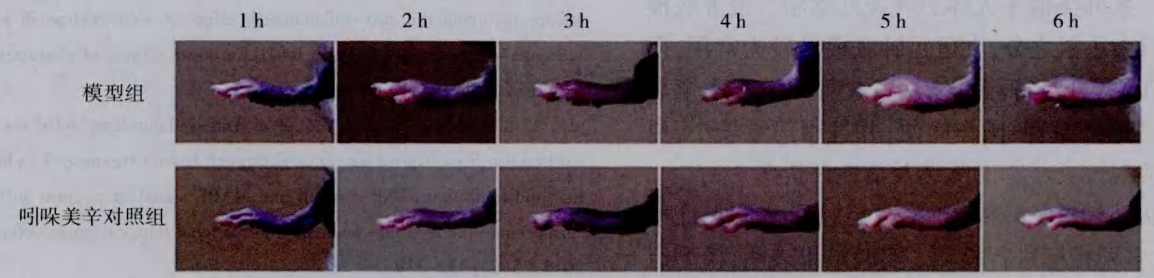
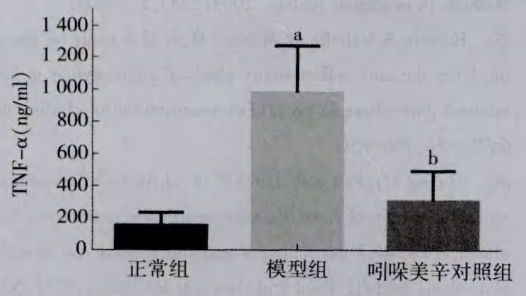


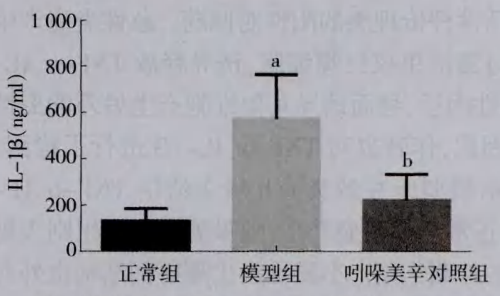

**图 1 角叉菜胶诱导的 C57BL/6J 小鼠足肿胀以及吲哚美辛的影响作用**

Fig.1 Carrageenan-induced paw edema and the effect of Indomethacin on paw edema induced by carrageenan in C57BL/6J mice




a. 与正常组相比，$P$=0.000；b. 与模型组相比，$P$=0.005

A. TNF-α 含量

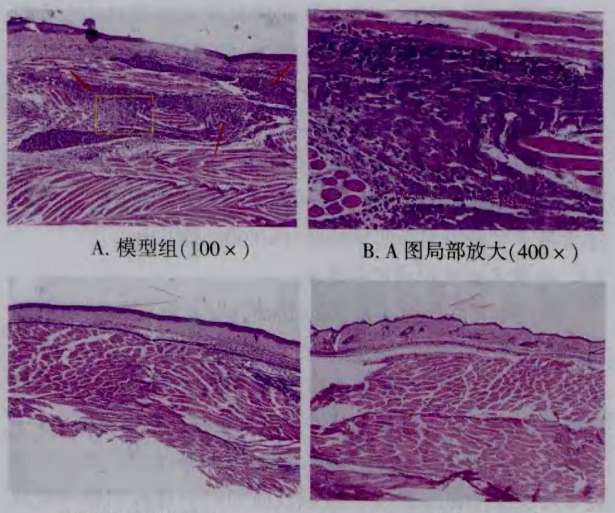



a. 与正常组相比，$P$=0.000；b. 与模型组相比，$P$=0.008

B. IL-1β 含量

**图 2 ELISA 法检测各组血清 TNF-α 和 IL-1β 含量水平（$\bar{x} \pm s$，$n$=8）**

Fig.2 Serum levels of TNF-α and IL-1β in each group were measured by ELISA（$\bar{x} \pm s$，$n$=8）



A. 模型组（100×）　B. A 图局部放大（400×）

C. 吲哚美辛对照组（100×）　D. 正常组（100×）

图 3　各组小鼠足趾的 HE 染色结果（HE）

Fig.3　HE staining of paw in each group（HE）

## 3　讨　论

角叉菜胶诱导产生的足肿胀急性炎症模型被广泛用于抗炎药物的筛选和活性评价，主要病理表现为炎症局部毛细血管扩张、血管通透性增高、渗出、水肿等一系列类似于人体急性炎症症状。足肿胀模型主要有大小鼠之分，大鼠足肿胀模型较为常用，但存在操作不方便，待测药物用量大等缺点。小鼠足肿胀模型价格便宜，操作简便，并且用药量较小，更适合于常规抗炎药物的筛选及活性评价[4]。

本实验建立 C57BL/6J 小鼠足肿胀急性炎症模型，并对多项指标进行检测。实验结果表明，模型组小鼠表现出稳定持续的足趾肿胀，而吲哚美辛对照组表现出明显抑制角叉菜胶诱导产生的肿胀，表明该模型方法稳定可靠，并且吲哚美辛也是抗炎药物筛选和活性评价理想的阳性对照药。急性炎症产生时可通过激活单核巨噬细胞，诱导释放 TNF-α、IL-1β 等炎性因子，继而诱导其他细胞产生另外的炎性因子。因此，作者也对 TNF-α、IL-1β 进行了检测。结果显示模型组在致炎 6 h 后血清中 TNF-α、IL-1β 相比正常组都明显升高，吲哚美辛对照组则表现出明显的抑制作用。小鼠足趾生理解剖结构由外向里分别为表皮层、真皮层以及皮下组织等，健康状态时各组织间隙无明显炎症细胞浸润，急性炎症产生时会表现出以中性粒细胞为主的大量炎症细胞的聚集，并伴随局部血管通透性增高、渗出、水肿等病理表现。对该模型的足趾炎症局部进行了病理学观察，研究发现在致炎 6 h 后，模型组小鼠足趾表皮基底层以及皮下肌肉层内出现大量中性粒细胞浸润，表现为急性化脓性炎症，而吲哚美辛对照组小鼠足趾组织内中性粒细胞浸润则被明显抑制，正常组无明显变化。以上病理改变及临床表现与文献报道相一致[5-6]。

综上所述，不论从活体动物的临床表现及肿胀度，还是从血清炎性因子或者组织病理检测等方面，角叉菜胶诱导的 C57BL/6J 小鼠急性足肿胀炎症模型均表现出稳定可靠、重复性高、操作方便等优点。足趾肿胀厚度、血清炎性因子以及炎症部位病理改变等是评价小鼠急性足肿胀炎症模型的重要指标。本实验描述 C57BL/6J 小鼠急性炎症模型的建立及指标评价，为抗炎药物筛选以及活性评价提供了重要的实验依据。

## 参　考　文　献

[1] Sadeghi H, Hajhashemi V, Minaiyan M, et al. A study on the mechanisms involving the anti-inflammatory effect of amitriptyline in carrageenan-induced paw edema in rats[J]. European journal of pharmacology, 2011, 667(1-3): 396-401.

[2] Li YY, Huang SS, Lee MM, et al. Anti-inflammatory activities of cardamonin from Alpinia katsumadai through heme oxygenase-1 induction and inhibition of NF-kappaB and MAPK signaling pathway in the carrageenan-induced paw edema[J]. International immunopharmacology, 2015, 25(2): 332-339.

[3] Sun YL, Zhang XY, Sun T, et al. The anti-inflammatory potential of neuropeptide FF in vitro and in vivo[J]. Peptides, 2013, 47(1): 124-132.

[4] Morris CJ. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse[J]. Methods in molecular biology, 2003(225): 115-121.

[5] Hossein S, Valiolla H, Mohsen M, et al. A study on the mechanisms involving the anti-inflammatory effect of amitriptyline in carrageenan-induced paw edema in rats[J]. European journal of pharmacology, 2011, 667(1-3): 396-401.

[6] Huang GJ, Pan CH, Liu FC, et al. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of Antrodia salmonea in the lipopolysaccharide-stimulated RAW246.7 macrophages and the lambda-carrageenan-induced paw edema model[J]. Food and chemical toxicology, 2012, 50(5): 1485-1493.

（责任编辑：关蕴良）