DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.037

差异更明显。总之,RAPD技术在小鼠遗传监测、品系鉴定、建立新品系等工作中具良好的应用前景。

参考文献:

[1] 陈 洪,朱立煌,徐吉臣,等. RAPD标记构建水稻分子连锁图[J]. 植物学报,1995,37(9):677-684.
[2] 沈 曦,周开亚,王义权. 中国蝮属蛇类的RAPD分析[J]. 动物学报,1999,45(1):40-48.
[3] 常 青,周开亚,王义权,等. 太湖猪遗传多样性和系统发生关系的RAPD分析[J]. 遗传学报,1999,26(5):480-488.
[4] Nomura T. Practical development of genetically engineered animals as human disease models[J]. Lab Anim Sci,1997,47(2):113-117.
[5] 程振华,张连峰,秦 川,等. 小鼠小卫星DNA阳性克隆的鉴定及DNA指纹分析[J]. 中国实验动物学报,1996,4(2):82-85.
[6] Venugopal G, Trivedi H N, Mohapatra S S. Arbitrary single short primers identify polymorphic DNA markers that distinguish inbred strains of mice [J]. Biochem Biophys Res Commun,1994,203(1):659-665.
[7] 张文艳,龚春梅,魏云林,等. 一种新的近交系实验动物遗传监测方法及小鼠性别相关RAPD标记的发现[J]. 实验生物学报,1996,25(4):59-69.

(编辑 郭建秀)

文章编号:1000-5404(2001)08-0953-01

个案与短篇

犬急性胰腺炎动物模型的建立

Establishment of a dog model of acute pancreatitis

夏时海,赵晓晏 (第三军医大学附属新桥医院消化内科,重庆 400037)

开展对急性胰腺炎的实验研究,制备理想可靠的动物模型至关重要。我们参照并比较了国内外制备急性胰腺炎动物模型的各种不同方法[1],建立了制备犬水肿型和出血坏死型急性胰腺炎模型的方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

重庆地区健康杂种犬28只,体重10~15 kg,雌雄不拘,购自第三军医大学实验动物中心,实验前于本院动物室驯养2周。

1.2 试剂和药品

胰蛋白酶由上海浦东生化试剂厂提供,淀粉酶试剂盒由Beckman公司提供,牛磺胆酸钠由Sigma公司提供。

1.3 犬急性胰腺炎模型的制备

所有犬实验前禁食12 h,不禁水。先以氯胺酮肌注诱导麻醉,继以2.5%戊巴比妥钠(1 ml/kg)静脉麻醉,再以5%葡萄糖盐水静滴。将犬仰卧,四肢固定于手术台上,常规皮肤准备、消毒、铺巾后在无菌条件下进行手术。先行右股静脉置管备抽血样本用。经上腹正中切口入腹,寻及十二指肠,于主胰管开口附近(距幽门约7 cm)十二指肠对系膜面切开,寻及小乳头,置一直径为2 mm塑料管于主胰管内,用不同的压力注入5%牛磺胆酸钠(0.5 ml/kg)和胰蛋白酶(3 000 U/kg)混合液,滞留5 min后拔去塑料管,荷包缝合十二指肠壁,关腹。术后补液1 500 ml等渗液体,并加强护理。

1.4 实验分组

所有犬利用随机数字表法分3组:假手术组(SO,$n=8$)、水肿型胰腺炎组(AP,$n=10$)和出血坏死型胰腺炎组(AHNP,$n=10$)。假手术组除不注入上述混合液外,其余操作相同。分别以2.0 kPa和8.0 kPa恒定压力向主胰管内注入上述混合液,复制急性水肿型胰腺炎和急性出血坏死型胰腺炎模型。

1.5 观察项目

于术前麻醉状态下,术后1、6、24 h分别抽血测血清淀粉酶。各组未死亡犬于术后72 h处死,取胰腺组织作光镜检查。

1.6 统计学分析

数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。

2 结果

2.1 血清淀粉酶变化见表1

表1 各组血清淀粉酶测定结果(U/L)

组别	n	0 h	1 h	6 h	24 h
SO	8	849.6±238.8	950.0±210.5	942.5±150.8	984.0±174.6
AP	10	1052.2±189.6	1568.5±307.5*	2153.5±721.3*	1479.9±420.6*
AHNP	10	1008.2±182.0	1789.5±214.6**	6240±3430.4**	5486.9±2635.3**

*:$P<0.05$,**:$P<0.01$ 与SO组相比

2.2 病理学观察

SO组胰腺腺泡结构正常;AP组胰腺间质轻度水肿、充血,少量炎性细胞浸润;AHNP组胰腺腺泡结构模糊,可见大片出血和坏死,大量炎性细胞浸润。

3 讨论

目前用于制备急性胰腺炎的动物主要是狗和大鼠,有的也用猫和兔等,其中狗是制作急性胰腺炎模型的首选动物[2]。狗的消化系统发达,与人有相同的消化过程,所以特别适合用作消化系统的实验研究。狗胰腺平均重量达230 g,大鼠只有1 g左右,猫和兔约20 g。狗胰腺与人胰腺相似,起源于两个原基,一般有两条胰管,即主胰管和副胰管,主胰管开口于十二指肠小乳头,直径大于2 mm,长度大于12 mm[2,3]。完全可进行主胰管插管,并通过调节注入主胰管药物的压力,分别复制出急性水肿型或出血坏死型胰腺炎,因为不同的压力导致药物对毛细

(下转956页)

作者简介:夏时海(1971-),男,四川省平昌县人,硕士,医师,助教,主要从事重症急性胰腺炎血循环障碍机制方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68755604

收稿日期:2000-09-01;修回日期:2001-01-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

目的。因此将脱带后的小鼠胚胎与未经处理的肿瘤细胞共培养，使其直接接触是本研究的创新点。

Ishiwata 等[1]将 10 种人类肿瘤细胞株作为饲养层细胞，与着床前各期的受精卵共培养，并比较受精卵的生长发育情况。结果提示，促进囊胚发育最好的细胞株为来源于人类子宫颈的鳞状细胞癌细胞株SKG-Ⅱ。Ben-Chetrit 等[2]应用卵巢上皮癌细胞作为营养细胞，与人胚一起共培养，在受精后第 5 天，共培养组 68% 的囊胚发育到桑葚胚，而对照组仅 34%。这主要是在培养环境中存在某些对胚胎有利的营养因子及促胚胎发育成分[3]，特别是卵巢上皮细胞癌分泌的集落刺激因子，表皮生长因子、转生长因子、血小板衍生生长因子、白细胞介素-1 及人着床前胚胎 EGF-R 等。Goshen 等[4]将绒毛膜癌细胞与人正常的滋养层细胞共培养，发现绒癌细胞吸引滋养层细胞，伸出伪足吞食并形成慢性生长的克隆，在这一过程中，形成了一种杂交细胞，这种细胞与细胞之间的相互作用正是在体滋养层细胞形成胎盘的过程。这些实验都表明将性质不同的细胞共培养的形态学变化是研究细胞内在规律的可能方向之一。

我们所建立的脱带后的囊胚与肿瘤细胞的共培养体系是将欲测细胞共置于统一的生长环境中，旨在了解相互都是动态的具有侵袭能力的不同来源的细胞之间相互作用的方式。重点在于研究两种细胞接触后局部产生的生物学行为的变化。实验中选择人肺癌上皮细胞株 A549 是因为考虑选择胚层来源不同及异种细胞作为实验的对象。通过本实验的初步研究观察发现，脱带后囊胚的贴附与无细胞培养体系相比，无明显时间与形态上的差异。虽然贴附开始是发生在肿瘤细胞的表面，但经过 24 h 的继续培养，囊胚将“植入”进肿瘤细胞的中间，进而推开底层细胞直接贴附并扩展在培养板上。这种现象与小鼠囊胚在小鼠子宫上皮细胞作为饲养层细胞上生长行为相一致[5]。故本实验提示囊胚在除母体子宫内膜外还可能和其他细胞相粘附，并有滋养层细胞的外延生长，说明胚胎与子宫上皮细胞间的贴附同其他细胞间的粘附机制有某些相似性，并且说明小鼠囊胚体外的贴附与扩展与相作用的细胞的分化水平无关。本实验模型的建立使不同细胞间相互作用关系的比较性研究成为可能。

在培养的 4～5 d 以后囊胚的滋养层细胞继续扩展，并全部平铺于培养板上，形成一透明的膜状结构，肿瘤细胞在囊胚的周围形成一隆起的细胞界限。可能的原因是：①肿瘤细胞的粘附性较低，在滋养层细胞运动的作用下，将接触的肿瘤细胞从培养板上推起，而形成隆起的细胞结构。②在滋养层细胞所分泌的基质金属蛋白酶的水解下将肿瘤细胞的粘附性伪足从培养板上消化起来，而形成细胞的界限。③作为具有侵润性的滋养层细胞是否通过某种机制诱导了接触的肿瘤细胞的凋亡？对于共培养体系中肿瘤细胞出现接触抑制的机制将是本实验室下一步研究的重点。

参考文献：

[1] Ishiwata I, Tokieda Y, Ishiwata C, *et al*. Effects of feeder cells (human cancer cell lines) on the development of mouse embryos by co-culture[J]. Hum Cell, 1997, 10(4): 237－246.

[2] Ben-Chetrit A, Jurisicova A, Casper R F. Coculture with ovarian cancer cell enhances human blastocyst formation *in vitro*[J]. Fertil Steril, 1996, 65(3): 664－666.

[3] Kobayashi M, Hirako M, Minato Y, *et al*. Rat hepatoma Reuber H-35 cells produce factors that promote the hatching of mouse embryos cultured *in vitro*[J]. Biol Reprod, 1997, 56(4): 1 041－1 049.

[4] Goshen R, Schreck H, Komitowski D, *et al*. Morphologic characteristics of the interaction between normal cytotrophoblasts and their malignant counterpart in the development of trophoblastic neoplasia[J]. J Soc Gynecol Investig, 1996, 3(4): 209－215.

[5] 郑瑞珍，辛　俭，朱少侠，等. 兔和小鼠早期胚胎 ICM 在 ES 培养系统中行为的比较[J]. 动物学报，2000，46(3)：314－323.

（编辑　王　红）

（上接 953 页）

胰管和胰腺细胞损伤程度不同。本研究结果表明，杂种狗用于制备急性胰腺炎两种动物模型十分理想；而且本方法优于传统的分离主胰管后结扎胰管或插管，不易引起创伤性胰腺炎，易于控制实验条件，又能根据研究需要复制急性水肿型或出血坏死型胰腺炎模型并进行研究。

用于制备急性胰腺炎动物模型的试剂和药品种类较多。我们选用牛磺胆酸钠和胰蛋白酶。牛磺胆酸钠是一种细胞毒性物质，其诱导胰腺损伤是浓度依赖性的；牛磺胆酸钠诱导急性胰腺炎的机制尚未完全阐明[4]。本实验血清淀粉酶和病理学变化结果表明，我们应用牛磺胆酸钠和胰蛋白酶制备杂种狗两类急性胰腺炎模型是可靠的。

关键词： 急性胰腺炎；动物模型

中图法分类号： R657.51　　**文献标识码：** B

参考文献：

[1] Aho H J, Koskensalo S M L, Nevalainen T J. Experimental pancreatitis in the rat: Sodium tauocholate-induced acute hemorrhagic pancreatitis[J]. Scand J Gastroenterol, 1980, 15(4): 411－416.

[2] 汤事能，阳亚楚，杨崇堂，等. 狗的胰腺管[J]. 中华实验外科杂志，1988，5(2)：92－93.

[3] Revell D G. The pancreatic ducts in the dog[J]. Am J Anat, 1902, 1: 443.

[4] 许春芳，蒋文平，蔡衍郎，等. 牛胆酸钠诱导大鼠急性胰腺炎系列模型的研究[J]. 新消化病杂志，1995，3(3)：130－141.

（编辑　薛国文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net