

大鼠慢性浅表性胃炎模型的建立

任守忠¹, 马志健², 王继浩³, 曾贵荣²

(1. 海南医学院药学院, 海口 571101; 2. 海南医学院解剖教研室, 海口 571101;
3. 海南医学院中医学院, 海口 571101; 4. 湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410331)

[摘要] 目的: 采用综合法建立大鼠慢性浅表性胃炎(CSG)动物模型。方法: 应用 60% 乙醇, 20 mmol·L⁻¹ 去氧胆酸钠和 0.05% ~ 0.1% 氨水刺激胃黏膜, 并结合饥饱失常。12 周后观察大鼠胃黏膜病理变化及胃液酸度、胃蛋白酶活性和游离黏液量等生化指标变化。结果: 与对照组比, 模型组动物一般情况差、体重增加缓慢, 胃窦黏膜炎性细胞浸润, 炎症评分明显增加; 游离酸和总酸度明显增加, 游离黏液量和胃蛋白酶活性明显升高。结论: 应用 60% 乙醇和 20 mmol·L⁻¹ 去氧胆酸钠, 0.05% ~ 0.1% 氨水并结合饥饱失常对 SD 大鼠刺激 12 周可成功地建立 CSG 模型, 且稳定性好。

[关键词] 浅表性胃炎; 动物模型; 乙醇; 去氧胆酸钠; 氨水

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0191-04

Rat Model of Chronic Superficial Gastritis

REN Shou-zhong¹, MA Zhi-jian², WANG Ji-hao³, ZHENG Gui-rong⁴

(1. School of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 571101, China;
2. Department of Human Anatomy, Hainan Medical University, Haikou 571101, China;
3. School of Traditional Chinese Medicine, Hainan Medical University, Haikou 571101, China;
4. Hunan Provincial Center of Safety Evaluation of Medicine, Changsha 410331, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a rat model of chronic superficial gastritis. **Method:** The experimental SD rats were given 60% alcohol and 20 mmol·L⁻¹ sodium deoxycholate, 0.05% - 0.1% ammonia water and also treated with irregular diet for 12 weeks, pathologic changes in gastric mucosa were investigated by microscope. Biochemical indexes were measured with instruments. **Result:** Compared with the control group, the body weight in the model group decreased obviously, the concentration of free acid and total acid were significant increased, free mucin content and pepsin activity were significant higher. **Conclusion:** The above described method could establish rat model of chronic superficial gastritis successfully.

[Key words] chronic superficial gastritis; animal model; alcohol; sodium deoxycholate; ammonia water

慢性浅表性胃炎(chronic superficial gastritis, CSG)是一种临床常见病、多发病,是由多种原因引起的胃黏膜慢性炎症性病变,浅表性胃炎迁延不愈,将转化为萎缩性胃炎,其中约有 10% 在 20 年观察中发展为胃癌。因此,从萎缩性胃炎和胃癌预防的角

度注重对浅表性胃炎的研究,特别是建立类似人的慢性浅表性胃炎动物模型具有重要意义,但目前尚缺乏稳定的、成熟的 CSG 动物模型,为此,本研究采用多因素综合方法成功制备了一种简便、价廉、稳定的 CSG 动物模型。

1 材料

1.1 试剂 无水乙醇:分析纯,湖南汇虹试剂有限公司,批号 20100621;去氧胆酸钠:生化试剂,批号 302-95-4, Sigma 公司,合肥博美生物技术有限公司分装。28% 氨水:湖南升株洲市化学工业研究所出

[收稿日期] 20110112(011)

[第一作者] 任守忠,在读博士,讲师,主要从事中药新药研究与开发, Tel: 13647545568, E-mail: rsz19771029@163.com

品,批号 20100317;甲醛:分析纯,湖南汇虹试剂有限公司,批号 20100303;酚酞:成都市医药公司化学试剂部分装,批号 970331;二甲基黄:天津市可密欧化学试剂有限公司,批号 2010110;阿利新蓝:Sigma 公司,合肥博美生物技术有限公司分装,批号 75881-23-1;胃蛋白酶测定试剂盒:南京建成生物工程研究所第一分所,批号 2010820。

1.2 动物 SD 大鼠,SPF 级,体重 180 ~ 220 g,雌雄各半;由上海斯莱克景达实验动物长沙分公司提供,合格证号 NNASKJ20100121。

1.3 饲养条件 湖南中医药大学 SPF 级实验室,IVC 笼具。各组雌雄各半分开饲养。室温(21 ± 2)℃,湿度(55 ± 5)% ,垫料经紫外消毒。实验动物环境合格证号 SCK(湘)2009-0001 号。

2 方法

2.1 模型制备 将 40 只 SD 大鼠按体重随机分为 2 组,正常对照组 20 只,模型组 20 只,雌雄各半。模型组大鼠 ig 60% 乙醇,每周二和周五 8:00 空腹 ig 1 次,2 mL/次;20 mmol·L⁻¹ 去氧胆酸钠,不空腹 ig,1 次/d(周二和周五下午 ig,其他时间上午 ig),2 mL/次;第 1 ~ 6 周 0.05% 氨水作为大鼠日常饮用水自由饮用,第 7 ~ 12 周 0.1% 氨水自由饮用;饥饱失常:2 d 足量喂食,1 d 禁食,喂食日不限量。以上实验时间为 12 周。造模过程中死亡 1 只(造模第 2 天死亡,原因是 ig 误入气管所致)。

2.2 观察内容

2.2.1 一般情况观察 各组大鼠精神状态、活动情况、毛发光泽度、食欲及大小便情况,并记录体重变化。

2.2.2 胃液生化指标测定 实验第 12 周后,大鼠禁食不禁水 16 h,颈椎脱臼处死,立即取出全胃,沿

胃大弯剪开,用 4 mL 蒸馏水洗胃内容物,收集于刻度离心管中并定容至 5 mL,离心 3 000 r·min⁻¹ 10 min,取上清液,按酸碱滴定法^[1] 滴定并计算胃游离酸(FA)和总酸(TA)含量,参照文献^[2] 测定游离黏液(PS)含量。按照胃蛋白酶试剂盒说明书测定胃蛋白酶活性(MUC)。

2.2.3 胃黏膜组织学观察 取胃液后先肉眼观察胃黏膜形态(包括黏膜的色泽,弹性,皱襞多少,黏液是否丰富),然后将胃立即用 10% 中性甲醛溶液固定,石蜡切片,HE 染色,显微镜下观察。

2.2.4 炎症反应采用分级记分^[3] 0 分:无炎症;1 分:在胃黏膜上皮内(胃小凹区)或固有腺底部可见多个慢性炎症细胞;2 分:在胃黏膜小凹区至黏膜肌层均有较多的炎症细胞浸润;3 分:在胃黏膜内可见成堆炎症细胞聚集灶。

2.2.5 胃窦黏膜腺体厚度(L1)和黏膜肌层厚度(L2)测定 用测微器在距幽门环(250 ± 50) μm 处测量胃窦黏膜腺体厚度和黏膜肌层厚度。并计算 L1 与 L2 之比。

2.3 数据处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较用 *t* 检验。采用 SPSS 16.0 软件对数据进行分析处理。*P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 正常组精神状态良好,活泼好动、毛发有光泽,食欲好,二便正常,体重逐渐增加。模型组精神萎靡,活动减少、毛发枯糙而无光泽、体重增长缓慢。两组体重比较(*P* < 0.05),见表 1。

3.2 胃液生化指标 与正常对照组比较,模型组胃液中游离酸度、总酸度、胃蛋白酶活性和游离黏液含量均显著增高,见表 2。

表 1 两组大鼠体重变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重/g						
		第 1 周	第 3 周	第 5 周	第 7 周	第 9 周	第 11 周	第 12 周
正常	20	182.8 ± 6.6	210.7 ± 17.8	243.3 ± 32.7	271.6 ± 47.3	302.8 ± 63.9	331.9 ± 811.7	364.4 ± 99.6
模型	19	184.0 ± 6.1	215.3 ± 16.7	236.7 ± 28.5	260.9 ± 42.7	280.3 ± 53.9 ¹⁾	294.3 ± 67.8 ¹⁾	305.9 ± 80.9 ¹⁾

注:与正常组比¹⁾ *P* < 0.05,²⁾ *P* < 0.01(表 2 ~ 3 同)。

表 2 两组大鼠胃液中 FA,TA,MUC,PS 变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FA/mmol·L ⁻¹	TA/mmol·L ⁻¹	MUC/U·mL ⁻¹	PS/mg
正常	20	1.16 ± 0.43	3.79 ± 2.00	151.05 ± 44.23	0.45 ± 0.22
模型	19	3.50 ± 1.25 ²⁾	5.95 ± 1.95 ²⁾	478.4 ± 135.02 ²⁾	0.56 ± 0.18 ¹⁾

3.3 病理组织学观察

3.3.1 肉眼观察 正常组大鼠胃黏膜表面平整光

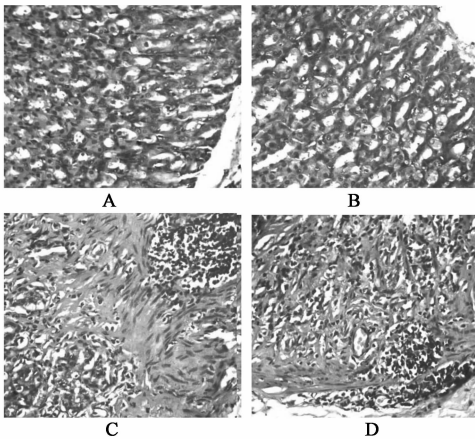
滑,呈淡红色,有光泽,有时可见被覆的黏液,胃壁厚,皱襞高而多,肌张力较强;模型组胃黏膜表面粗

糙,色淡,少光泽,有散在出血点,皱襞变平或走向紊乱,可见不同程度的陈旧性出血点,有的伴胃窦黏膜点状或灶状糜烂。

3.3.2 光镜观察 正常组大鼠胃黏膜上皮细胞排列整齐,细胞呈单柱状,腺体排列紧密规则,除胃窦部可见个别炎细胞外,其余部位极少见到炎细胞浸润(图1);模型组胃黏膜上皮排列紊乱,黏膜层有大量炎症细胞浸润,部分有成堆淋巴细胞聚集灶,黏膜的炎症指数明显增高($P < 0.01$)(图1),胃窦黏膜腺体排列紊乱,变薄不明显,黏膜腺体厚度(L1)/黏膜肌层厚度(L2)之比无变化,见表3。

表3 大鼠胃黏膜组织病理观察($\bar{x} \pm s$)

组别	n	黏膜损伤程度			胃黏膜炎症评分	L1/L2
		轻度	中度	重度		
正常	20	2	0	0	0.30 ± 0.48	3.00 ± 1.11
模型	19	6	8	5	$1.25 \pm 0.82^{2)}$	2.85 ± 0.67



A, B. 正常对照组; C, D. 模型组

图1 大鼠胃窦黏膜病理变化(HE, $\times 400$)

4 讨论

慢性浅表性胃炎(CSG)是临床常见病、多发病,在胃镜检查中约占全部胃炎的50%~85%^[4],它是由多种原因引起的胃黏膜非特异性慢性炎症。其基本病变是胃黏膜上皮变性,炎性细胞浸润,病变多局限于黏膜浅层,有时亦可累及全层^[5],但固有腺体则无萎缩,其迁延不愈,可转化为萎缩性胃炎,其中约有10%可在20年观察中发展为胃癌,因此,积极干预治疗慢性浅表性胃炎对防治其转化为萎缩性胃炎,降低胃癌的发生具有重要意义。

动物模型是疾病研究中的一个非常关键的环节,对其研究具有重要的意义,目前有关慢性萎缩性

胃炎动物模型研究比较多,且方法也比较成熟,而对慢性浅表性胃炎的动物模型研究尚少,且缺乏一个稳定的、经济的、理想的动物模型,鉴于此,本实验采用综合方法建立此模型。

空腹 ig 60% 乙醇损伤大鼠胃黏膜,以 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧胆酸钠模拟十二指肠胆汁反流, ig 去氧胆酸钠既可以确定用量又可以节约成本,给予 0.05%~0.1% 氨水饮用模拟 HP 感染状态下高氨对胃黏膜的毒性损害,饥饱失常模拟人不规律饮食对胃损伤。经过连续 12 周刺激病理检查发现模型组大鼠胃窦黏膜糜烂、大量炎细胞浸润,炎症指数明显增加($P < 0.01$),胃窦黏膜腺体厚度变薄不明显, L1/L2 与正常对照组比较无显著变化,这是与萎缩性胃炎的区别,同时,其功能也伴随改变,胃酸分泌明显增加、胃液游离黏液量和胃蛋白酶活性明显升高($P < 0.01$),与文献报道^[6]的结果基本一致。胃酸和胃蛋白酶是反映胃分泌功能的重要指标,胃酸的主要作用是通过激活胃蛋白酶原而生成具有生物活性的胃蛋白酶,当胃酸和胃蛋白酶分泌增多时,胃液的消化作用加强,从而损伤胃黏膜,符合慢性胃炎的病理生理变化,证明我们建立的大鼠 CSG 模型是成功的。

相关性分析:①很多文献报道 SD 大鼠用 60% 乙醇 ig 加 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧胆酸钠饮用或单用 0.05%~0.1% 氨水饮用 3 个月或 90 d(大约 12~13 周)就可以复制慢性萎缩性胃炎模型,通过我们实验研究发现以上因素刺激 3 个月或 90 d 能建立典型 CSG 模型,可以诱发出胃黏膜早期萎缩征象,尤以胃窦部明显,但未出现典型的萎缩性胃炎病理改变。这与文献报道相一致^[7-8],原因可能与刺激时间短,大鼠胃黏膜修复能力强等因素有关。②60% 乙醇要空腹 ig,且 ig 1 h 后再喂食饮水,这样可以使乙醇能充分与胃黏膜接触,避免了食物等因素的影响。③ $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧胆酸钠溶液 ig 既能确定用量又能节约成本,应每天现配现用。④氨水饮用:前 6 周给予 0.05% 氨水饮用,后 6 周给予 0.1% 氨水饮用,使动物有一个适应过程。⑤饥饱失常可以模拟人由于不规律饮食对胃黏膜造成损伤,使模型更接近临床。⑥灌胃要准确无误,避免误入气管。且动作要轻柔以免误伤食管。

综上所述,应用 60% 乙醇, $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧胆酸钠, 0.05%~0.1% 氨水、饥饱失常处理 12 周能建

保产无忧散对产前抑郁模型小鼠的抗抑郁作用

张海蓉*

(泰安市中医院妇产科, 山东 泰安 271000)

[摘要] 目的: 观察保产无忧散对产前抑郁模型小鼠的抗抑郁作用及对产前抑郁模型小鼠的内分泌影响。方法: 通过强迫游泳建立产前抑郁模型, 小鼠随机分为正常对照组, 模型组, 保产无忧散高、中、低剂量组 ($30, 15, 7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。连续 ig 给药 8 d, 观察各组小鼠不动时间以及雌激素 (E_2)、孕激素 (P) 及催乳素 (PRL) 的变化情况。结果: 保产无忧散高、中剂量组不动时间明显减少 ($P < 0.05$), PRL, 孕激素 P 水平与模型组相比明显降低 ($P < 0.05$)。结论: 保产无忧散可有效减少受孕小鼠不动时间, 对产前抑郁症状有明显缓解作用

[关键词] 保产无忧散; 产前抑郁; 催乳素; 孕激素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0194-03

Antidepressant Effect of Baochan Wuyou Powder on Antenatal Depression in Mice

ZHANG Hai-rong*

(1. Taian Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Taian 271000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antidepressant effects of Baochan Wuyou powder on antenatal

[收稿日期] 20110426(017)

[通讯作者] * 张海蓉, 主治医师, Tel: 13176406307, E-mail: pathology001@sina.com

立典型的鼠 CSG 模型, 且制模成功率高, 稳定性好, 可靠, 价廉, 简便, 为临床研究人类慢性浅表性胃炎提供了较理想的动物模型。

[参考文献]

- [1] Gao F, Hu X F. Effect of somatostatin analogue octreotide injected into the third cerebral ventricle on pentagastrin-induced gastric acid secretion in rats [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12 (17): 2767.
- [2] Yang M, Sun H, Yu D W, et al. Effects of the Polysaccharides isolated from Ganoderma applanatum (PGA) on the level of PGE₂ and gastric mucosal blood flow (GMBF) and gastric mucus secretion of rats with gastric mucosa injury [J]. China J Chin Mater Med, 2005, 30 (15): 1176.
- [3] Wang L J, Chen S J, Si J M, et al. Effects of muscovite on cell Proliferation of gastric mucosa in rats with chronic

atrophic gastritis [J]. Chin Pharm J, 2005, 40 (16): 1226.

- [4] 叶任高, 陆再英. 内科学 [M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 380.
- [5] 中华医学会消化病学分会, 全国慢性胃炎研讨会共识意见 [J]. 中华消化杂志, 2000, 20 (3): 199.
- [6] 王利芳, 乔樵, 朱曙东. 云香复合胃痛胶囊对慢性浅表性胃炎大鼠胃分泌功能的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16 (6): 372.
- [7] 姒健敏, 吴加国, 曹倩, 等. 鼠慢性萎缩性胃炎模型的建立及致萎缩因素探讨 [J]. 中华消化杂志, 2001, 21 (2): 75.
- [8] 项尊, 姒健敏, 黄怀德. 大鼠慢性胃炎模型的快速建立及致萎缩因素探讨 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2001, 30 (1): 16, 21.

[责任编辑 聂淑琴]